



**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**

**Universidad del Perú. Decana de América**

**Facultad de Medicina Veterinaria**

**Escuela Profesional de Medicina Veterinaria**

**Efecto del estadio de desarrollo de la onda folicular  
sobre la respuesta ovárica, tasa de recuperación y  
calidad de embriones en alpacas**

**TESIS**

**Para optar el Título Profesional de Médico Veterinario**

**AUTOR**

**Josías Noé ASCENCIO SANTIAGO**

**ASESOR**

**Wilfredo HUANCA LÓPEZ**

**Lima, Perú**

**2017**



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

## Referencia bibliográfica

---

Ascencio J. Efecto del estadio de desarrollo de la onda folicular sobre la respuesta ovárica, tasa de recuperación y calidad de embriones en alpacas [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina Veterinaria, Escuela Profesional de Medicina Veterinaria; 2017.

---



Universidad Nacional Mayor de San Marcos  
Universidad del Perú, Decana de América  
Facultad de Medicina Veterinaria  
Escuela Profesional de Medicina Veterinaria



## ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIO

En el Auditorio Principal de la Facultad de Medicina Veterinaria, el día **viernes 10 de noviembre del 2017**, a las **11:00 horas**, se constituyó el Jurado Examinador designado mediante Resolución Directoral N° 0184-EPMV/FMV-2017, integrado por los siguientes profesores:

**Víctor Leyva Vallejos**  
**Wilfredo Huanca López**  
**Boris Lira Mejía**  
**Juan Olazabal Loaiza**

Presidente del Jurado  
Asesor de la Tesis  
Miembro del Jurado  
Miembro del Jurado


Luego de la instalación del Jurado, a cargo del Presidente del Jurado y bajo la dirección del mismo, el Bachiller Don: **ASCENCIO SANTIAGO, Josías Noé** para optar el Título Profesional de Médico Veterinario, procedió a sustentar públicamente la Tesis:


### **“EFECTO DEL ESTADÍO DE DESARROLLO DE LA ONDA FOLICULAR SOBRE LA RESPUESTA OVÁRICA, TASA DE RECUPERACIÓN Y CALIDAD DE EMBRIONES EN ALPACAS”**

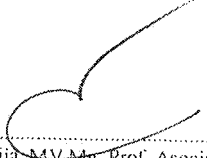
Luego de absolver las preguntas del Jurado y del público asistente, el Jurado deliberó con la abstención reglamentaria del Asesor de la Tesis y acordó su **APROBACIÓN** por **UNANIMIDAD**, otorgándole la nota de **DIECISEIS (16)**.

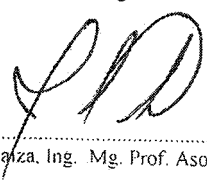
Habiéndose aprobado la sustentación pública de la Tesis, el Presidente en representación del Jurado recomienda que la Escuela Profesional de Medicina Veterinaria proponga la aprobación del **TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIO** a la Facultad de Medicina Veterinaria y que ésta proponga al Rectorado el otorgamiento respectivo.

Siendo las **12:10 horas**, concluyó el acto académico de sustentación pública de Tesis en fe de lo cual suscriben la presente acta por cuadruplicado los integrantes del Jurado:

  
\_\_\_\_\_  
Víctor Leyva Vallejos, MV Dr. Prof. Principal D.E.

  
\_\_\_\_\_  
Wilfredo Huanca López, MV Mg. Prof. Principal, D.E.

  
\_\_\_\_\_  
Boris Lira Mejía, MV Mg. Prof. Asociado T.C.

  
\_\_\_\_\_  
Juan Olazabal Loaiza, Ing. Mg. Prof. Asociado T.C.

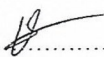
10 ENE 2018



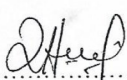
UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS  
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA  
**Facultad de Medicina Veterinaria**  
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA

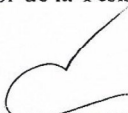
Trabajo sustentado y aprobado ante el Jurado designado por la Escuela Profesional de Medicina Veterinaria mediante Resolución Directoral N° 0184-EPMV/FMV-2017


PRESIDENTE :

  
VÍCTOR LEYVA VALLEJOS

MIEMBROS :

  
WILFREDO HUANCA LÓPEZ  
Asesor de la Tesis

  
BORIS LIRA MEJÍA

  
JUAN OLAZABAL LOAIZA

San Borja, 10 de Noviembre de 2017

V° B°

.....  
MV Mg. Hermelinda Rivera Gerónimo  
Directora (e)



Universidad Nacional Mayor de San Marcos  
Universidad del Perú, Decana de América  
Facultad de Medicina Veterinaria  
Escuela Profesional de Medicina Veterinaria



## ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIO

En el Auditorio Principal de la Facultad de Medicina Veterinaria, el día **viernes 10 de noviembre del 2017**, a las **11:00 horas**, se constituyó el Jurado Examinador designado mediante Resolución Directoral N° 0184-EPMV/FMV-2017, integrado por los siguientes profesores:

**Víctor Leyva Vallejos**  
**Wilfredo Huanca López**  
**Boris Lira Mejía**  
**Juan Olazabal Loaiza**

Presidente del Jurado  
Asesor de la Tesis  
Miembro del Jurado  
Miembro del Jurado


Luego de la instalación del Jurado, a cargo del Presidente del Jurado y bajo la dirección del mismo, el Bachiller Don: **ASCENCIO SANTIAGO, Josías Noé** para optar el Título Profesional de Médico Veterinario, procedió a sustentar públicamente la Tesis:

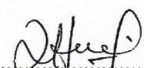
### “EFECTO DEL ESTADÍO DE DESARROLLO DE LA ONDA FOLICULAR SOBRE LA RESPUESTA OVÁRICA, TASA DE RECUPERACIÓN Y CALIDAD DE EMBRIONES EN ALPACAS”

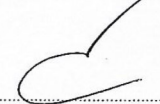
Luego de absolver las preguntas del Jurado y del público asistente, el Jurado deliberó con la abstención reglamentaria del Asesor de la Tesis y acordó su **APROBACIÓN** por **UNANIMIDAD**, otorgándole la nota de **DIECISEIS (16)**.

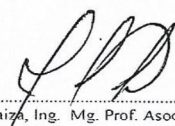
Habiéndose aprobado la sustentación pública de la Tesis, el Presidente en representación del Jurado recomienda que la Escuela Profesional de Medicina Veterinaria proponga la aprobación del **TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIO** a la Facultad de Medicina Veterinaria y que ésta proponga al Rectorado el otorgamiento respectivo.

Siendo las **12:10 horas**, concluyó el acto académico de sustentación pública de Tesis en fe de lo cual suscriben la presente acta por cuadruplicado los integrantes del Jurado:

  
.....  
Víctor Leyva Vallejos, MV Dr. Prof. Principal D.E.

  
.....  
Wilfredo Huanca López, MV Mg. Prof. Principal, D.E.

  
.....  
Boris Lira Mejía, MV Mg. Prof. Asociado T.C.

  
.....  
Juan Olazabal Loaiza, Ing. Mg. Prof. Asociado T.C.

## **DEDICATORIA**

A Dios todopoderoso, en quien confío en silencio y Él que protege mis caminos de la vida.

A mis padres Félix y Fortunata, y a mis seis hermanos, quienes de una forma u otra me apoyaron y confiaron en todas mis capacidades, Gracias por todo el esfuerzo y todos los sacrificios que hicieron para permitirme llegar hasta aquí. Dios nos proteja y nos mantenga siempre unidos.

A la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos mi alma mater, mi segundo hogar y a todos mis docentes, gracias por todo el esfuerzo que hacen y buscan ayudarnos de diferentes formas a conseguir nuestras metas profesionales.

A mis amigos del Laboratorio del ayer, hoy y siempre, con quienes comparto tantas alegrías y quienes siempre me apoyan en los momentos difíciles. Y a mi amiga que no dejo rendirme. Le doy gracias a Dios por haberlos hecho llegar a mi vida.

A los productores alpaqueros de todo el Perú, gente noble y valiente que pese a las adversidades, ellos día a día hace todo lo posible por salir adelante.

## AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Wilfredo Huanca, maestro, mentor, guía y como un segundo padre para mí, el gran responsable de despertar en mí, el interés por la reproducción animal y la investigación científica. Gracias por su amistad y por todo el apoyo que siempre me brinda. Mi agradecimiento también a la Dra. Aida Cordero y al Dr. Antonio Ampuero por su amistad y motivación constante.

Al Dr. Teodosio Huanca, y a todo el personal del CIP Quimsachata, en especial a los Doctores Rómulo Sapaná y Oscar Cárdenas, por todas sus enseñanzas y todo el apoyo brindado para la realización de la presente investigación.

A mis compañeros y amigos de la FMV – UNMSM: Renato, Camilo, Marco y el Gran Turín, ya que sin su esfuerzo y colaboración, hubiese sido imposible realizar el presente trabajo; a Cecilia y Abiel que me apoyaron en los últimos días y a todos los chicos de las diferentes universidades del Perú que tuve la suerte de conocer durante mis prácticas en el CIP Quimsachata del INIA-PUNO.

Al Kristhy Cahuapaza Lozano mi gran amiga y confidente, quien me enseñó a no rendirme en los tiempos difíciles y quien me apoyo mientras me encontraba lejos de casa.

A los chicos del Repro-Team del Laboratorio de Biotecnologías Reproductivas de la FMV – UNMSM, Camilo, Marco, Renato, Juan Carlos, Turín, Fahrid y Fred. ¡Gracias por su amistad y cariño!



## TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
<b>RESUMEN</b>	v
<b>ABSTRACT</b>	vi
<b>LISTA DE CUADROS</b>	vii
<b>LISTA DE FIGURAS</b>	viii
 <b>I. INTRODUCCIÓN-----</b>	 <b>1</b>
 <b>II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA-----</b>	 <b>3</b>
<b>2.1 Realidad de los Camélidos Sudamericanos en el Perú-----</b>	<b>3</b>
<b>2.2 Anatomía del aparato reproductor de la hembra-----</b>	<b>4</b>
<b>2.3 Fisiología reproductiva de la alpaca hembra-----</b>	<b>5</b>
2.3.1 Pubertad.....	5
2.3.2 Estacionalidad y comportamiento reproductivo de la hembra.....	7
2.3.3 Dinámica folicular en los Camélidos Sudamericanos.....	9
2.3.4 Ovulación.....	12
2.3.5 Ovulación espontánea y ovulación inducida.....	14
2.3.6 Cuerpo lúteo.....	16
2.3.7 Reconocimiento maternal de la preñez y gestación.....	17
2.3.8 Mortalidad embrionaria.....	20
<b>2.4 Biotecnología reproductiva en camélidos sudamericanos-----</b>	<b>22</b>
2.4.1 Protocolos de superovulación.....	22
2.4.2 Transferencia de embriones en alpacas.....	24
 <b>III. MATERIALES Y MÉTODOS-----</b>	 <b>27</b>
<b>3.1 Lugar de estudio.....</b>	<b>27</b>
<b>3.2 Unidades experimentales.....</b>	<b>27</b>
<b>3.3 Recuperación y evaluación de la calidad de embriones.....</b>	<b>27</b>
<b>3.4 Procedimiento experimental.....</b>	<b>28</b>
<b>3.5 Análisis estadístico.....</b>	<b>30</b>
 <b>IV. RESULTADOS-----</b>	 <b>31</b>
 <b>V. DISCUSIÓN-----</b>	 <b>35</b>
 <b>VI. CONCLUSIONES-----</b>	 <b>37</b>
 <b>VII. LITERATURA CITADA-----</b>	 <b>38</b>
 <b>VIII. APÉNDICE-----</b>	 <b>49</b>

## RESUMEN

El presente trabajo tuvo por objetivo evaluar el efecto del estadio de desarrollo de la onda folicular: crecimiento, estático y regresión del folículo dominante previo al servicio sobre la tasa de ovulación, tasa de recuperación y la calidad embrionaria en alpacas luego del servicio por monta natural. El estudio fue realizado durante los meses de enero a abril del 2015, en el departamento de Puno. Se trabajó con alpacas hembras vacías ( $n = 53$ ) seleccionadas de acuerdo a la presencia de un folículo dominante  $\geq$  de 7 mm; las cuales fueron evaluadas con un ecógrafo Aloka SSD 500 y transductor lineal 7.5 MHz, para ser sincronizadas y distribuidas a uno de los siguientes tratamientos: T1 ( $n=16$ ): Fase crecimiento; T2 ( $n=19$ ): Fase estática y T3 ( $n=18$ ): Fase regresión. Posteriormente las alpacas hembras fueron sometidas a empadre controlado por un periodo de tiempo mayor a 15 minutos, para asegurar la ovulación y posterior fecundación. El día del empadre fue considerado el día 0, las evaluaciones ecográficas posteriores se realizaron en el día 2 (ocurrencia de la ovulación) y el día 7 (tamaño del cuerpo lúteo); el lavado uterino se realizó a los 7 días post servicio. Todos los animales en estudio fueron alimentados con pastos naturales y recibieron las mismas condiciones de manejo. Al realizar los lavados del grupo T<sub>1</sub> ( $n=16$ ) se recuperó 56.3% embriones ( $n_1=9$ ) y no ovularon 12.5%; en el T<sub>2</sub> ( $n=19$ ): Se recuperó 47.4% embriones ( $n_2=9$ ) y todos ovularon y en el T<sub>3</sub> ( $n=18$ ): Se recuperó 50% embriones ( $n_3=9$ ) y ovularon todos los animales. Los resultados obtenidos mostraron que para cada grupo se recuperaron 9 embriones. Para el T<sub>1</sub> ( $n_1=9$ ): 44.4% excelente y 55.6% buena calidad, T<sub>2</sub> ( $n_2=9$ ): 66.7% excelente y 33.3% buena calidad y T<sub>3</sub> ( $n_3=9$ ): 33.3% buena, 33.3% regular y 33.4% mala calidad. Los resultados sugieren que la calidad embrionaria es mejor en la fase de crecimiento y estática en comparación con la fase de regresión con una diferencia estadísticamente significativa ( $P<0.05$ ).

**Palabras clave:** Alpacas, estadio folicular, calidad embriones, cuerpo lúteo.

## ABSTRACT

This study was carried out to evaluate the effect of follicular wave development stage: growth, static and regression of the dominant follicle prior to the service on ovulation rate, recovery rate and embryo quality in alpacas after natural mounting. The study was conducted during the months of January to April 2015, in the department of Puno. Adults alpacas females (n = 53), were selected according to the presence of a dominant follicle  $\geq 7$  mm and synchronized with an analogous of GnRH (Acetate of buserelin) and then evaluated by ultrasound (ALOKA SSD 500) and a transducer lineal of 7.5 MHz. The animals were assigned to the following treatments: T1 (n=16): Phase growth; T2 (n=19): static phase and T3 (n=18): Phase regression. They were then subjected to breeding controlled for more than 15 minutes to ensure ovulation time, the day of the breeding season was considered day 0 and ultrasound evaluations were performed on day 2 (occurrence of ovulation) and day 7 (size of the corpus luteum); flushing was performed at 7 days post ovulation. All animals were maintaining under natural pastures and received the same management conditions. Embryo recovery was: T<sub>1</sub> (n=16) group: 56.3% embryos (n<sub>1</sub>=9) were recovered and not recovered 31.3% of embryos and did not ovulate 12.5% T<sub>2</sub> (n=19) was recovered 47.4% embryos (n<sub>2</sub>=9) and 52.6% of embryos and T<sub>3</sub> (n=18) were recovered: 50% embryos (n<sub>3</sub>=9) was recovered and 50% not recovered. The results showed for each group nine embryos were recovered. T<sub>1</sub> (n<sub>1</sub>=9): 44.4% 55.6% excellent and good quality, T<sub>2</sub> (n<sub>2</sub>=9): 66.7% 33.3% excellent and good quality and T<sub>3</sub> (n<sub>3</sub>=9): 33.3% good, 33.3% Regular and 33.4% poor quality. The results suggest that the embryo quality is better in the growth phase and static compared with to the regression phase with a statistically significant difference (P<0.05).

**Keywords:** Alpacas, follicular stage, embryo quality, corpus luteum.

## LISTA DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1 Diseño experimental .....	29
Cuadro 2 Tamaño del folículo dominante al inicio del empadre en alpacas.....	31
Cuadro 3 Tasa de ovulación en diferentes estadios de desarrollo en la onda folicular .....	32
Cuadro 4 Tamaño del cuerpo lúteo al inicio del lavado de cuernos uterinos en alpacas .....	32
Cuadro 5 Recuperación de embriones al lavado de cuernos uterinos en alpacas.....	33
Cuadro 6 Tabla cruzada Calidad embrionaria*Estadío de desarrollo .....	33

## LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Fig. 1 Procedimiento experimental .....	29
Fig. 2 Gráfico de la Prueba de Kruskal-Wallis .....	34

## I. INTRODUCCIÓN

Una actividad socio-económica importante para el poblador altoandino es la crianza de camélidos sudamericanos; porque suministra fibra valiosa para la industria textil y carne como fuente importante de proteína animal (Fernández-Baca, 1971). El ecosistema donde habitan estos animales está por encima de los 4000 msnm, donde los pastos son de baja calidad debido a las difíciles condiciones medioambientales; aun así, esta especie ha sido capaz de adaptarse a este hábitat para producir fibra de gran calidad y carne altamente proteica (Fernández-Baca, 1991). Las alpacas presentan una deficiente reproducción con una baja tasa de gestación, atribuida a una alta tasa de mortalidad embrionaria (Novoa, 1991).

Según la clasificación planteada por Conaway (1971), los camélidos sudamericanos como la alpaca (*Vicugna pacos*), llama (*Lama glama*) y las especies silvestres como la vicuña (*Vicugna vicugna*) y el guanaco (*Lama guanicoe*) (Marín et al., 2007), son considerados especies de ovulación inducida, donde el factor principal que desencadena el fenómeno de ovulación está dado por la cópula (Fernández-Baca *et al.*, 1972a). El desarrollo de la onda folicular en alpacas se da de manera alterna en ambos ovarios, esto se comprueba con la presencia del folículo dominante en ambos ovarios en un 85 % (Fernández-Baca, 1993); detectándose después de la ovulación, el cuerpo lúteo; en llamas, en el ovario derecho en 51 %, ovario izquierdo en 47 % y en ambos 2 % (Bravo *et al.*, 1990; Sumar, 2000).

Las alpacas presentan una reproducción deficiente y que es atribuida principalmente a una alta tasa de mortalidad embrionaria (Novoa, 1991). Esta mortalidad puede llegar hasta el 50% durante los primeros 35 días de gestación; por esto, que aproximadamente 40 a 50% de las alpacas en edad reproductiva no pueden producir más de una cría al año (Fernández Baca *et al.*, 1970a).

Una alternativa tecnológica para mejorar la eficiencia reproductiva en las alpacas es el uso de la transferencia de embriones (Ratto *et al.*, 2013), pero los resultados no siempre son los

esperados, reportándose una tasa de recuperación de embriones de 4.8 embriones/animal (Huanca W. *et al.*, 2009) en llamas y 2.7 embriones/animal en alpacas (Huanca T., 2008).

Los folículos en diferentes estadios contienen ovocitos que pueden variar en sus características y que pueden afectar la calidad de los embriones recuperados, por lo que el presente estudio fue realizado con el propósito de evaluar el efecto del estadio de desarrollo de la onda folicular sobre la respuesta ovárica, tasa de recuperación y calidad de embriones en alpacas, buscando determinar posibles diferencias del estadio de desarrollo de la onda folicular sobre la calidad de ovocitos y el desarrollo embrionario temprano.

## **II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 Realidad de los Camélidos Sudamericanos en el Perú:**

En la actualidad el Perú posee una población de 3 685 516 alpacas, 1 204 277 llamas y 198 074 vicuñas, siendo el país que posee el 80% de la población mundial en alpacas y el segundo de llamas después de Bolivia (MINAGRI, 2013).

La introducción de especies domésticas provenientes de Europa como los ovinos y bovinos tras la conquista del imperio incaico produjo el desplazamiento de las especies nativas a las zonas más elevadas de la región andina, pese a ello los Camélidos Sudamericanos sobrevivieron gracias a su gran capacidad de adaptación, transformando los pobres pastos que consumen en carne de gran calidad y fibra de gran finura, es por esta razón que su crianza se ha convertido en la principal actividad productiva de los pobladores alto andinos, ya que para ellos la práctica de la agricultura es casi imposible por las condiciones ambientales (FAO, 2005).

Entre las distintas especies de camélidos, la alpaca es la de mayor importancia económica debido a la calidad de su fibra, que es muy apreciada por la industria textil. No obstante, en los últimos años se produjo un acelerado desarrollo de una industria textil artesanal, generada por algunas ONGs y para satisfacer las demandas del turismo, que crea numerosos puestos de trabajo al utilizar métodos artesanales para el hilado y tejido (Sumar, 2007). Aun así la repercusión de los productos obtenidos a partir de este camélido en la economía peruana es poco significativa. Los productos procedentes de las alpacas constituyen tan solo el 1,35 % de las exportaciones totales del Perú, lo que representa únicamente el 5% de las exportaciones no tradicionales. Su contribución al Producto Bruto Interno (PBI) manufacturero ha sido cifrada entre el 2% y el 2,5% en los últimos 10 años (CITE Alpaca, 2006). Las exportaciones de fibra de alpaca suponen para el país unos ingresos anuales de divisas de 1 200 000 dólares USA (IPAC, 2005).



Los trabajos de investigación junto con el desarrollo de técnicas de crianza se están desarrollando desde los años 60 debido al interés de las grandes haciendas por la producción de estas especies. Actualmente se sigue con el esquema tradicional en los sistemas de crianza y un muy bajo porcentaje de los productores adoptan criterios técnicos de crianza, situación que definitivamente dificulta la mejora genética de estas especies.

La salida en el año 1984 de una cantidad importante de ejemplares de alta calidad hacia USA, Australia y Nueva Zelanda, provocó que en la actualidad que más del 70% de los ejemplares presentes en el Perú produzcan una fibra de elevado grosor, siendo muy escasos los reproductores de calidad, por lo que su precio no está al alcance de la mayoría de los productores artesanales. Esta realidad nos obliga a buscar alternativas tecnológicas que favorezcan la reproducción rápida de los pocos ejemplares de alta calidad genética que aún hay en el país (Sumar, 2007). La formación de núcleos de reproductores y la realización de pruebas de progenie nos ayudaría a la mejora genética pero requiere de muchos años de trabajo y está limitada, entre otros factores, por el largo intervalo generacional y la escasa capacidad reproductiva de la hembra, ya que tan solo produce un máximo de 4-5 crías a lo largo de toda su vida reproductiva (Novoa *et al.*, 1999).

## 2.2 Anatomía del aparato reproductor de la alpaca hembra

Los ovarios son órganos pares localizados en la cavidad abdominal, cada ovario está rodeado completamente por un largo pliegue del mesosálpinx con forma cónica denominado bursa ovárica, cuya porción apical forma un amplio orificio circular que comunica con la fimbria del oviducto (Bravo *et al.*, 2000).

Los ovarios de la alpaca son de forma globular (1.3-1.9 x 0.9-1.3 x 0.9-1.3 cm). El peso aproximado es de 1.9 a 2.4 gramos y su tamaño varía de acuerdo a la edad y a las estructuras presentes en los ovarios (Sato y Montoya, 1990; Sumar, 1985). En las hembras nulíparas, son aplanadas lateralmente y tienen una superficie irregular debido a la presencia de muchos folículos pequeños (Sato y Montoya, 1990).

Numerosos folículos de 2 a 5 mm pueden ser observados en la superficie ovárica en las hembras adultas. En animales jóvenes no es fácil su detección por palpación rectal, pero por ultrasonografía son detectados una vez que alcanzan 3 mm. Los folículos preovulatorios y cuerpo lúteo pueden ser detectados por ambas vías mencionadas (Vaughan y Tibary, 2006).

Los oviductos son conductos delgados y tortuosos, de 15 a 20 cm de longitud, que comunican el ovario con el útero, miden de 10 a 12 cm de longitud y están suspendidos por el mesosálpinx. Cada oviducto se une a un cuerno uterino a través de un estrecho orificio que forma una papila

protuberante. Esta estructura, denominada istmo, actúa como un esfínter para evitar movimientos retrógrados de los fluidos contenidos en el útero (Sumar, 1996).

Entre sus diversas funciones del oviducto se destaca la captación del ovocito proveniente del ovario, el transporte y almacenamiento de los espermatozoides depositados en el útero, proporcionar el ambiente adecuado para que se produzca la fecundación y el inicio del desarrollo embrionario (Sato y Montoya, 1990).

El útero de la alpaca y llama es bicornes con forma de Y, se divide en cuernos, cuerpo y cérvix. Externamente, desde el punto de bifurcación a la extremidad distal, el cuerno izquierdo mide 7,9 cm y el derecho 7,4 cm. El cuerno uterino izquierdo es más grande que el derecho desde la etapa fetal y prepuberal y esta diferencia se acentúa en las hembras multíparas como consecuencia de que el 98% de las gestaciones tienen lugar en el cuerno izquierdo (Fernández-Baca *et al.*, 1973).

Internamente, existe una pared medial o velo uterino de aproximadamente 2 cm de largo, que divide ambos cuernos. El cuerpo uterino es pequeño, mide 1,5 cm de largo por 2 cm de ancho.

El cuello del útero o cérvix presenta tres a cuatro pliegues anulares y su longitud oscila entre los 2 y 5 cm. El grado de apertura o cierre está sometido a regulación endocrina, de manera que su luz se dilata durante el celo para facilitar la cópula, mientras que se estrecha durante la gestación para evitar la contaminación del útero mientras se completa el desarrollo embrionario o fetal (Sato y Montoya, 1990).

La longitud de la vagina varía entre 13-15 cm y su diámetro está comprendido entre 3,5-5 cm, se caracteriza por tener una mucosa que forma numerosos pliegues (Sumar, 1996).

El himen, o sus restos, marcan la separación entre la vagina y la vulva. La longitud de la vulva es de unos 3 cm. y el clítoris es muy pequeño (Sato y Montoya, 1990; Bravo *et al.*, 2000).

## 2.3 Fisiología reproductiva de la alpaca hembra

2.3.1 Pubertad pubertad es el proceso donde el animal adquiere su capacidad reproductiva. Su aparición depende de la habilidad de neuronas hipotálamicas específicas para producir GnRH en suficientes cantidades para promover y mantener la gametogénesis. Es considerado que un animal alcanza la pubertad cuando es capaz de liberar gametos y muestra un comportamiento sexual (Hafez, 2000). En caso de las alpacas estas muestran indicios de receptividad sexual desde los 12 a 14 meses de edad, sin embargo, la actividad ovárica en esta especie se inicia mucho antes, ya que se observó en los ovarios la presencia de folículos con un diámetro superior a los 5 mm (Sumar, 1985). La

hormona responsable del inicio de la actividad ovárica es la hormona luteinizante (LH). En el estadio prepuberal de la borrega se vio que los pulsos de la LH son similares a los adultos en cuanto a su amplitud, pero mucho más bajo en su frecuencia. Es por esto que el crecimiento folicular es insuficiente para activar el pico preovulatorio de LH y no ocurre la ovulación (Noakes *et al.*, 2009).

En todas las especies el inicio de la pubertad está condicionada por factores ambientales siendo el más importante la condición corporal del animal, en ese sentido, se asume que para iniciar la pubertad, el animal debe alcanzar el 60% del peso corporal de un adulto, lo que en las alpacas supone que deben llegar a los 33 a 36 kg de peso vivo (Sumar, 1985; Smith, 1985). Además se encontró relación entre el peso corporal en la época de empadre y la tasa de natalidad, donde se obtuvo una tasa de preñez aproximada al 50% y que por cada kilogramo de aumento de peso corporal hubo 5% de incremento en el porcentaje de natalidad; sin embargo, animales por debajo de los 33 kg los parámetros evaluados fueron independientes (Leyva y Sumar, 1981).

En condiciones nutricionales óptimas las alpacas hembras pueden tener su primera gestación a los 12 meses (Fernández-Baca *et al.*, 1972a). Sin embargo, es común que la primera gestación recién se inicie a los 2 años de edad debido a las condiciones ambientales y la característica de las pasturas de los andes peruanos. Si tomamos en cuenta que la tasa de natalidad media en el caso de las alpacas es aproximadamente del 50%; solo la mitad de los animales empadrados a los 2 años producirá su primera cría a los 3 años, mientras que el resto solo lo hará hasta los 4 años de edad (Fernández-Baca *et al.*, 1974). Además, una práctica generalizada de las comunidades campesinas es empezar con el empadre a la edad de 2 años en alpacas y a los 3 años en llamas (Fernández-Baca, 1993).

Si bien los mecanismos endocrinológicos sobre el inicio de la pubertad no se han descrito aun en camélidos sudamericanos, en otras especies se sugiere que la inactividad hipotalámica es la responsable de mantener el estado prepuberal; evidencias señalan que en bovinos y ovinos existe un efecto de retroalimentación negativa de los estrógenos ováricos antes de la pubertad sobre el pulso generador de GnRH (Kinder *et al.*, 1987). Pero conforme se acerca la pubertad este efecto disminuiría, convirtiéndose paulatinamente en un mecanismo de retroalimentación positiva provocando el aumento de las concentraciones circulantes de gonadotropinas, por incremento en amplitud y frecuencia de sus pulsos periódicos (Hafez, 1996), necesarios para la maduración folicular y ovulación (Kinder *et al.*, 1987 citado por Stevenson, 1997). En bovinos la pubertad ocurre hacia los 12 meses de edad, en ovinos a los 6 o 7 meses (Hafez, 1996); tiempo que estaría influenciado por el efecto de la nutrición sobre la maduración sexual (Kinder *et al.*, 1987; Schillo *et al.*, 1992). Estudios señalan que la subnutrición sería un inhibidor de la secreción pulsátil de

LH al reducir la secreción de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), secreción que estaría relacionada con la información del estado metabólico del animal (Schillo, 1992) que se sugiere sería brindado por la leptina al sistema nervioso central (Mantzoros, 2000). De este modo la serviría como una señal para el inicio de la pubertad (Baldelli *et al.*, 2002), al estar relacionada con la activación del eje hipotálamo-hipofisiario-gonadal cuando el energético corporal en el animal es el adecuado para desempeñar una función reproductiva normal (Mantzoros, 2000; Baldelli *et al.*, 2002).

### 2.3.2 Estacionalidad y comportamiento reproductivo de la hembra

En los camélidos sudamericanos no se considera que tienen un ciclo estral definido, a diferencia del vacuno u ovino, porque tienen una ovulación inducida. El término usado es la presencia o ausencia de receptividad sexual. Durante la época de parición y sin la presencia de machos, pueden permanecer receptivas por periodos hasta de 36 días, con breves periodos de anestro que no son mayores de 48 horas (San Martín *et al.*, 1968; Novoa, 1989); la constancia probablemente se deba a ondas foliculares continuas de larga duración con presencia aparentemente continua de un folículo estrogénico y su consiguiente secreción de estrógenos (Novoa, 1989; Fernández-Baca, 1993). Las alpacas y llamas hembras muestran diferentes grados de receptividad sexual que es independiente al tamaño del folículo ovárico al momento de la cópula, ya que se observó el rechazo a la monta del macho a pesar de la presencia del folículo preovulatorio (Sumar *et al.*, 1993; Bravo *et al.*, 1994). Poseen la capacidad de reproducirse durante todo el año, cuya actividad ovárica de las hembras es continúa durante todo el año, sin alterarse la cantidad de folículos preovulatorios presentes en el ovario durante todas las estaciones (Bravo y Sumar, 1989), la época reproductiva comprendida entre los meses de diciembre a marzo es un periodo determinado más por el manejo y la disponibilidad de alimento, que por la influencia estacional sobre la fisiología reproductiva de las hembras, ya que esa época del año coincide con las condiciones ambientales más favorables, al ser los meses más templados y lluviosos y durante los cuales existe una mayor disponibilidad de pastos (Novoa, 1991).

Muchas veces la conducta sexual está determinada por el manejo y los criterios de crianza, así por ejemplo en las comunidades campesinas los machos y las hembras están agrupadas durante todo el año y las hembras paren únicamente entre los meses de diciembre a marzo, lo cual indica que el empadre se realiza entre los meses de enero y abril. Cuando se mantienen en puntas separadas el manejo del empadre se da entre enero y marzo, con lo cual la parición se da en buenas condiciones ambientales y suficiente pastura (Fernández-Baca, 1993).

La asociación continua de hembras y machos inhibe la actividad sexual de los machos e inclusive puede provocar que desaparezca por completo la libido. Sin embargo, recuperan su

actividad sexual de manera inmediata cuando son introducidos a un nuevo rebaño de hembras. Por el contrario, cuando se mantienen machos y hembras separados y solamente se permite la cópula de forma esporádica, ambos sexos se mantienen sexualmente activos durante todo el año y los partos pueden producirse en cualquier época (San Martín *et al.*, 1968; Fernández-Baca *et al.*, 1972b; Sumar, 1985, citado por Brown, 2000).

England *et al.* (1971) afirma que el comportamiento sexual en las hembras receptivas se pueden dividir en fase de cortejo y fase de copulación o monta. La duración de la primera fase es influenciada por el nivel de la libido y fortaleza del macho, tiene una duración que puede llegar hasta los 10 minutos, y termina cuando el macho monta o es rechazado. La hembra no receptiva, al ser requerida por el macho, trata de escapar y se defiende pateando o escupiendo (Novoa y Leyva, 1996). La fase de copulación es variable, en empadre libre se registra  $8,1 \pm 5,4$  minutos y en empadre controlado  $17,5 \pm 12,1$  minutos (Novoa, 1991), pero otros autores dan un rango más amplio desde 5 a 65 minutos (Sumar, 1985, citado por Brown, 2000; Fernández-Baca, 1993).

Una vez que la hembra acepta al macho, esta adopta una posición decúbito esternal con la pelvis elevada, lo cual facilita la monta del macho, que pone los metatarsos lateralmente a los lados de la hembra y sus patas apoyados en el piso. Además se observa que otras hembras en celo se acercan cautelosamente a las parejas que se están apareando, huelen al macho y luego se echan al suelo permaneciendo en esa posición por todo el tiempo que dura la cópula (Fernández-Baca, 1971; Novoa, 1991; Sumar, 1997). Algunas hembras montan a otras que están echadas, ejecutando movimientos pélvicos similares a los del macho; sin embargo, dicho estímulo no es suficiente para producir la ovulación (Fernández-Baca *et al.*, 1970a; Novoa, 1970). Durante la cópula, el macho constantemente emite un sonido gutural denominado “orgling”, además de dilatación de los orificios nasales y movimientos de la cola, mientras que la hembra permanece quieta. Bravo (1994) sugiere que dicho sonido gutural puede contribuir con la respuesta neural en el hipotálamo de la hembra para la estimulación de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH). Además en la cópula el macho busca con su pene ubicar la vulva y lo introduce en la vagina, atraviesa la cérvix, hasta llegar hasta los cuernos uterinos donde con movimientos suaves, sucesivos y alternados a lo largo de la eyaculación provoca en el endometrio inflamación, edema e hiperemia (Bravo *et al.*, 1996; Velásquez F. *et al.*, 1999).

La no receptividad es una característica diferencial entre hembras preñadas y vacías; puesto que se considera que dentro de los 18 a 20 días posteriores a la monta, cuando la receptividad no está presente es debido a la preñez (Fernández-Baca, 1971), por el efecto inhibitorio de la progesterona. En relación a la efectividad de determinar preñez en llamas mediante conducta

sexual a los 16 días post servicio, ésta fue de 76,2% al compararla con el diagnóstico ecográfico a los 17 días post servicio (Cárdenas *et al.*, 2001).

### 2.3.3 Dinámica folicular en los Camélidos Sudamericanos

Los camélidos sudamericanos hembras no expuestas al macho poseen ondas foliculares sucesivas, trabajos previos realizados mediante ultrasonografía demostraron que tanto las alpacas (Vaughan *et al.*, 2004), llamas (Adams *et al.*, 1990) y vicuñas (Miragaya *et al.*, 2004) presentan el patrón de crecimiento en forma de ondas foliculares similares a los rumiantes, en tres fases de desarrollo, por lo cual un grupo de folículos es reclutado, de ellos es seleccionado uno e inicia su crecimiento, se diferencia y alcanza el tamaño preovulatorio (igual o mayor a 7mm de diámetro); mientras que los demás regresionan (Bravo *et al.*, 1990; Fernández-Baca, 1993; Brown, 2000), este folículo preovulatorio difiere de otras especies en el hecho que en ausencia de copula no se produce la ovulación ni la formación de un cuerpo lúteo, en su lugar al final de la oleada de crecimiento se produce la atresia del folículo dominante (Sumar, 2000).

El folículo dominante tiene tres fases de desarrollo, crecimiento (incremento de diámetro folicular), estática (cambios mínimos en el diámetro) y regresión (disminuye su diámetro) (Stevenson, 2007), siendo la duración media de cada una de ellas de 4 días en la alpaca (Bravo y Sumar, 1989). Bravo *et al.* (1990) utilizaron la ultrasonografía para determinar los siguientes parámetros en llamas adultas: periodo de crecimiento desde folículos 3 mm hasta 12 mm con un promedio de  $4.8 \pm 1.5$  días, el periodo de maduración o estática con folículos de 8 mm a 12 mm en  $5.0 \pm 1.6$  días, y la fase de regresión del folículo dominante hasta 3 mm un promedio de  $4.0 \pm 1.1$  días. El intervalo entre ondas fue en su mayoría hasta 11.1 días, ocurriendo datos individuales de 8 y 14 días. Otro dato que se obtuvo fue que la emergencia de un nuevo folículo dominante sucesivo fue de 2 a 3 días después de la regresión en la onda folicular previa.

La primera fase se caracteriza por el crecimiento de un grupo de folículos antrales de 2 a 3 mm hasta alcanzar un diámetro de 4 a 5 mm. En las llamas y las alpacas no se ha comprobado que el inicio de la oleada de crecimiento folicular sea determinado por la elevación de los niveles de FSH, tal y como se produce en otras especies como los bovinos (Adams, 1999). En el estadio estático o de maduración el folículo dominante continua creciendo e inhibe el desarrollo de los folículos más pequeños (Bravo *et al.*, 1990), este proceso se produce probablemente, a través de la secreción de inhibina (Tibary, 2001; Tibary y Memon, 1999); reportándose una relación inversa entre el diámetro del folículo dominante y el número de folículos pequeños (Adams *et al.*, 1990). En llamas preñadas, Adams (2001), reporta que el folículo dominante alcanza un menor diámetro ( $9,7 \pm 0,2$  mm) que en no preñadas ( $11,5 \pm 0,2$  mm) y anovulatorias ( $12,1 \pm 0,4$  mm). Igualmente la lactación parece tener efecto, pues en llamas no lactantes el diámetro (12mm) es mayor que en

las lactantes (10mm) (Bravo *et al.*, 1997). Con respecto a la fase de regresión, está se produce debido a que el folículo dominante controla su propia duración (Adams y Ratto, 2001); por lo tanto si no hay ovulación se atresia (Bravo *et al.*, 1990). Al cabo de 2 a 3 días del inicio de la atresia del folículo dominante se inicia una nueva oleada de crecimiento folicular (Vaughan, 2001a) y en ocasiones se puede producir la coexistencia de dos folículos dominantes, uno en crecimiento y otro en regresión (Adams *et al.*, 1990).

Se ha determinado la existencia de una correlación positiva entre el tamaño del folículo dominante y las concentraciones plasmáticas de  $17\beta$ -estradiol y urinarias de sulfato de estrona, tanto en alpacas (Aba *et al.*, 1995; Bravo *et al.*, 1990), como en llamas (Aba *et al.*, 1995; Cháves *et al.*, 2002). Cuando el folículo adquiere su máximo diámetro se alcanza la mayor concentración de estradiol, en las alpacas a los 8 días del inicio de la oleada de crecimiento (Vaughan, 2001b) y en las llamas a los 10 a 13 días (Chaves *et al.*, 2002). El ovocito debe crecer para ser competente, ser fecundado e iniciar el desarrollo embrionario temprano. Durante el aumento de tamaño, el ovocito también se diferencia. Esto requiere una compleja organización citoplasmática que incluye la formación de nuevos productos y organelas, y la replicación y redistribución de las existentes (Picton *et al.*, 1998). Junto al gran incremento en la síntesis de ARN y proteínas, el número de ribosomas, mitocondrias y otras organelas celulares aumenta significativamente en los ovocitos en crecimiento. La síntesis de ARN es muy activa en ovocitos de folículos de 0,5 a 3 mm pero disminuye gradualmente a medida que el ovocito alcanza el tamaño final. La capacidad del ovocito para reiniciar y completar la meiosis e iniciar el desarrollo embrionario temprano luego de la fecundación va a ser marcadamente incrementada durante la dominancia folicular, especialmente después de la luteólisis, mediante un proceso llamado capacitación. Por lo tanto, después de finalizada la transcripción el ovocito no entra en quiescencia sino que se prepara para continuar el desarrollo como embrión después de la fecundación (Van den Hurk y Zhao, 2005). Estos estudios sugieren que un ovocito proveniente de un folículo en regresión posiblemente puedan sufrir cambios, que si bien no afectan la capacidad de fecundación si pueden afectar la expresión génica y capacidad del desarrollo embrionario temprano, como ha sido reportado en estudios In vitro con ovocitos bovinos (Córdova *et al.*, 2014).

La presencia de un cuerpo lúteo en el ovario, sea de ciclo o de gestación, no afecta al número de folículos en crecimiento (Del Campo *et al.*, 1996); además se observó que durante la lactación el intervalo entre oleadas de crecimiento folicular se reduce y también lo hace el diámetro máximo alcanzado por el folículo dominante, debido probablemente a los elevados niveles de prolactina (Adams *et al.*, 1990).

El desarrollo de la onda folicular en camélidos sudamericanos dura un promedio de 13.8 días; la fase de crecimiento dura aproximadamente  $4.8 \pm 1.5$  días; la fase de maduración tiene una duración de  $5 \pm 1.6$  días y la fase de regresión folicular dura  $4.0 \pm 1.1$  días (Bravo *et al.*, 1990). Sin embargo en otros estudios, Adams *et al.* (1990) encontró un largo total de 20 a 25 días; Aba *et al.* (2000) determinó un largo de onda en  $22.6 \pm 2.5$  días; siendo la fase de crecimiento (desde 3 mm a su máximo diámetro) de  $9.2 \pm 2.8$  días; maduración (permanencia alrededor del máximo diámetro) de  $5.2 \pm 1.4$  días y regresión (diámetros decrecientes) de  $8.2 \pm 2.2$  días; las diferencias encontradas se deberían al estado lactacional de los animales empleados (Adams y Ratto, 2001). Los folículos muestran una tasa de crecimiento de  $0.43 \pm 0.02$  mm / día, entre los días 0 y 10, por lo que la mayoría de los folículos alcanzó una medida de 6 ó 7 mm de diámetro a los 6 u 8 días (Bravo *et al.*, 1991; Sumar *et al.*, 1993). Finalmente no encuentra alternancia de folículos en los ovarios, reportando el 60 % del folículo dominante sucesivo en el ovario ipsilateral y un 40 % en el contralateral (Vaughan *et al.*, 2004). También se determinaron la tasa de crecimiento folicular en llamas y fue de 0.8 mm/día (Adams *et al.*, 1990) a 0.9 mm/día (Chávez *et al.*, 2002). El estado de lactación genera una disminución del desarrollo folicular debido probablemente a los niveles elevados de prolactina. En el estudio con llamas se vio claramente reducidos el intervalo entre ondas foliculares y el máximo tamaño del folículo dominante en comparación con llamas no lactantes (Adams *et al.*, 1990).

En vicuñas también se hizo un estudio de la actividad ovárica sin empadre y se obtuvo que el promedio de las ondas foliculares fue de  $7.2 \pm 0.5$  días con un rango de 4 a 11 días. La fase de crecimiento duró  $3.0 \pm 0.2$  días, la fase estática  $1.4 \pm 0.1$  y la fase de regresión  $2.9 \pm 0.3$  y el intervalo entre ondas foliculares fue de  $4.2 \pm 0.3$  días. La tasa de crecimiento folicular fue de  $1.8 \pm 0.1$  mm/día (Miragaya *et al.*, 2004).

El intervalo entre ondas foliculares, es decir el período entre la emergencia de folículos dominantes sucesivos, en promedio en alpacas es de  $15.8 \pm 0.6$  días (Vaughan *et al.*, 2000) y en llamas de  $18 \pm 2.6$  días (Chaves *et al.*, 2002) y se sugiere que la extensión de estos intervalos varía en relación al diámetro del folículo dominante; es decir, un menor intervalo estaría asociado con el menor diámetro del folículo. En algunos estudios se observó que los folículos dominantes se distribuyen de forma homogénea entre ambos ovarios (Bravo y Sumar, 1989), sin embargo, en otros se indica que el número de folículos presentes en el ovario izquierdo es ligeramente superior al del derecho (Del Campo *et al.*, 1996). No obstante, no siempre se produce alternancia entre ambos ovarios de una oleada a otra (Adams *et al.*, 1990); en llamas, en el ovario derecho en 51 %, ovario izquierdo en 47 % y en ambos 2 % (Bravo *et al.*, 1990; Sumar, 2000).



En los camélidos se ha descrito la presencia de folículos quísticos (Bravo *et al.*, 1990) y hemorrágicos (Adams *et al.*, 1991a). Cuando los folículos anovulatorios alcanzan un elevado tamaño, su persistencia se prolonga, dando origen a folículos quísticos o hemorrágicos, se ha podido observar que los folículos quísticos, cuyo diámetro es superior a los 12 mm, pueden mantenerse entre 17 a 31 días (Bravo *et al.*, 1991), y que los folículos hemorrágicos, con un diámetro superior a los 13 mm, se mantienen en el ovario 25 días o más (Adams *et al.*, 1991a).

#### 2.3.4 Ovulación

La ovulación es un mecanismo endocrino que trata de la ruptura o luteinización del folículo dominante y la salida del ovocito para que sea fecundado. Los camélidos sudamericanos son especies de ovulación inducida por la cópula, su estímulo proporciona el impulso nervioso necesario para desencadenar la secreción hipofisaria de la hormona luteinizante (LH), responsable de causar la ruptura folicular y la consiguiente liberación del óvulo (Fernández-Baca, 1971). En especies de ovulación espontánea como rumiantes en presencia de bajos niveles de progesterona, el estradiol producido por el folículo dominante produce un efecto estimulador sobre el eje hipotálamo-hipofisario, que induce la secreción de pulsos de LH cada vez con mayor frecuencia lo que desencadenará una serie de eventos que tendrán por resultado la liberación del ovocito proveniente del folículo dominante (Hafez y Hafez, 2002). El estradiol y la inhibina secretados por el folículo dominante inhiben la producción de FSH en la hipófisis sin afectar la producción de LH, por esto el folículo dominante se vuelve totalmente sensible a la acción de la LH y alcanza su tamaño preovulatorio. Cuando el estradiol alcanza su máximo nivel plasmático, el hipotálamo es estimulado a liberar GnRH en pulsos crecientes que incrementa paulatinamente la liberación pulsátil de LH hasta llegar a un nivel máximo conocido como “pico preovulatorio de LH”, el cual es el responsable de la secreción de PGE e Histamina, las que provocan el incremento de la permeabilidad vascular y edematización de los vasos de la teca interna. Luego del pico de LH, la teca interna produce progesterona la cual induce a producir colagenasa de acción local debilitando la túnica albugínea que rodea el ovario. El pico de LH estimula también la producción de PGF2 $\alpha$  en el ovario la cual produce la contracción de la musculatura lisa del ovario provocando la liberación de los lisosomas de las células de la granulosa deteriorando aún más el tejido conectivo que envuelve la zona del ápex folicular. Todos estos mecanismos producirán la rotura de la pared del folículo y la consecuente liberación del ovocito (Richards *et al.*, 2002).

En un estudio se señala que hembras liberaron menores cantidades de LH (29.1 ng/ml/6h) cuando poseían folículos pequeños comparados con aquellas de folículos mayores en maduración (55.1 a 62.4 ng/ml/6h) o en regresión (63.7 ng/ml/6h), y que no ocurrió ovulación en aquellas con

folículos <7mm de diámetro al momento de la cópula (Bravo *et al.*, 1991), esto último estaría relacionado con la adquisición de los receptores de LH a estados avanzados del desarrollo folicular (Gore-Langton y Armstrong, 1994).

En bovinos se conoce que el balance energético negativo decrece la secreción pulsátil de LH, afectando el crecimiento folicular y la oportunidad de que se presente ovulación ya que no ocurre el pico preovulatorio de LH (Schillo, 1992).

La cópula es relativamente larga en los camélidos sudamericanos y con períodos variables (Sumar, 1997). Existen trabajos que refieren que a mayor tiempo de duración de la cópula se obtiene mayor porcentaje de alpacas que ovulan, sin embargo se ha encontrado que en varios casos hembras con más de 20 minutos no llegan a ovular mientras que otras con 5 minutos si lo hacen (Vivanco *et al.*, 1985).

Posiblemente esto se deba a que en el semen se ha determinado que existe un factor inductor de la ovulación de naturaleza proteica de una masa molecular de 14 KDa, y 12-23 AA, cuyo efecto es luteotrópico (Adams y Ratto, 2001; Ratto *et al.*, 2012).

La ovulación como respuesta a la cópula requiere como requisito indispensable que el folículo dominante tenga un diámetro mayor a los 6 mm y se encuentre en fase de crecimiento (Adams *et al.*, 1990). Se ha observado que cuando el diámetro folicular es menor o el folículo se encuentra en fase de regresión con folículo menor a 7 mm, la ovulación no se produce (Bravo *et al.*, 1991). La ovulación se produce con similar frecuencia en ambos ovarios (Bravo *et al.*, 1994; 1995b; Fernández-Baca *et al.*, 1970a). La ovulación puede ocurrir 26 a 30 horas después de la cópula (San Martín *et al.*, 1968; Adams *et al.*, 1990) o puede ser inducida artificialmente entre las 24 – 30 horas postinyección de gonadotropina coriónica humana (hCG), de hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) y de LH (Fernández-Baca, 1971; Novoa, 1991; Sumar, 1997; Leyva y García, 1999a; Aller *et al.*, 1999; Huanca W. *et al.*, 2001). A pesar de que la mayor parte de las gestaciones se producen en el cuerno izquierdo no se ha demostrado el hecho que si el ovocito proviene del ovario izquierdo determine mayor probabilidad de preñez (Vaughan *et al.*, 2003). Si bien se sabe que en los camélidos sudamericanos existen ovulaciones múltiples (Bravo *et al.*, 1991; Fernández-Baca *et al.*, 1970a), no se han reportado partos múltiples (Fernández-Baca *et al.*, 1974; San Martín *et al.*, 1968). Existen fallas ovulatorias post cópula, que no han sido totalmente explicadas, señalándose que podría ser atribuida a una sensibilidad disminuida de los folículos a los niveles circulantes de LH debido a las variaciones en los estadios de maduración folicular (Fernández-Baca, 1971; Novoa, 1989).

En llamas y alpacas se ha reportado un 5 a 10 % de ovulaciones espontáneas en alpacas que no fueron privadas totalmente de estímulos visuales, olfatorios y auditivos del macho (Sumar, 2000). Esta situación también se produce cuando hay contacto físico entre hembras y machos, y como producto de la manipulación del tracto reproductivo de la hembra durante las ecografías trasrectales (Ratto *et al.*, 1997; Sumar, 1994).

### 2.3.5 Ovulación espontánea y ovulación inducida

El proceso de ovulación se produce como respuesta a estímulos producidos durante el coito en camélidos sudamericanos, de manera similar a los camellos del viejo mundo (San Martín M. *et al.*, 1968). Según Conaway (1971), clasificó por cómo se produce el proceso de la ovulación en las especies, separándolas en ovuladores espontáneos, si se produce por mero control endocrino de la hembra y ovuladores inducidos, si es necesario además de un estímulo externo para su realización.

Las especies de ovulación espontánea evolucionaron de las de ovulación inducida según muchas teorías (Conaway, 1971), otras hipótesis sugieren que la ovulación inducida evolucionó como una forma de asegurar la conservación a través de un estado de receptividad constante que permita la máxima posibilidad de concebir cuando se está sometido a severas condiciones medioambientales en ciertas especies (Larivière y Ferguson, 2003).

Los ovuladores espontáneos son aquellas especies que ovulan a intervalos regulares como respuesta a un estímulo endógeno: la alta concentración de estrógeno liberado por los folículos en el ovario; esto incluye a la mayoría de especies domésticas como bovinos, equinos y caninos. Los bovinos poseen un ciclo estral que puede durar de 17 a 25 días y se divide en 2 fases: folicular y luteal. La fase folicular que incluye el proestro y el estro, se extiende desde la regresión del cuerpo lúteo hasta la ovulación del folículo dominante. Durante esta fase las principales estructuras presentes en el ovario son los folículos en crecimiento y la hormona dominante es el estradiol. La fase luteal incluye el metaestro y el diestro, comprende desde la ovulación hasta la regresión del cuerpo lúteo; la estructura principal presente en el ovario en esta fase es el cuerpo lúteo y la hormona progesterona es la dominante (Adams, 2007).

Los ovuladores inducidos, a diferencia de la anterior, se necesita un estímulo exógeno provocado durante el coito para que ocurra la ovulación. Entre estas especies podemos mencionar a las gatas, conejas, hurones, camélidos sudamericanos y koalas. En cuanto al estímulo inductor se sabe que algunas especies solo necesitan una penetración y un solo eyaculado como en el caso de los conejos y los camélidos, pero en el caso de los gatos y ratones de campo necesitan varias penetraciones y eyaculados para ovular (Tanco, 2011).

En ambos tipos de ovuladores, el crecimiento folicular se presenta en ondas, en el caso de las vacas puede presentar de 2 a 3 ondas de crecimiento folicular (Adams, 2007). En todas estas especies, la fase folicular se caracteriza por el reclutamiento de varios folículos de los cuales solo uno se convierte en el dominante e inhibe a los folículos restantes y este crece y ovula en los ovuladores espontáneos, en el caso de los ovuladores inducidos es diferente, ya que al no haber el estímulo de la monta no se producirá la ovulación y el folículo dominante regresionará (San Martín *et al.*, 1968; Fernández-Baca, 1993; Sumar, 1996; Adams *et al.*, 2005).

En los Camélidos Sudamericanos la ovulación se produce si hay un folículo dominante mayor o igual a 7 mm al momento de la copula, pero si los folículos son más pequeños o se encuentran en fase de regresión, la ovulación no se produce (Vaughan *et al.*, 2004; Adams *et al.*, 1990). Durante la fase luteal las hembras no son receptivas al macho y se produce la luteólisis si no hay preñez. El cuerpo lúteo se puede detectar por ecografía 3 días después de la ovulación y alcanza su máximo diámetro 8 días después de la ovulación. El cuerpo lúteo se mantiene a lo largo de toda la gestación la cual dura alrededor de 325 a 361 días en las alpacas y 331 a 361 días en llamas (San Martín *et al.*, 1968; Sumar, 1996).

En el caso de los ovuladores espontáneos como la vaca, una vez que se ha producido la luteólisis y el folículo dominante ha alcanzado un tamaño preovulatorio ( $> 8$  mm), las vacas presentan el estro o franco celo que dura de 12 a 18 horas en promedio, durante este tiempo, las vacas presentan una conducta típica: son montadas por los toros u otras vacas; junto a otras vacas se lamen y olfatean los genitales y hay un notable aumento del desplazamiento ambulatorio de estos animales dentro de los corrales (Hafez, 2000). En general, los primeros signos del estro en la vaca se asocian con el inicio del pico preovulatorio de LH. La ovulación ocurre de 24 a 30 horas después del pico de LH; posteriormente se inicia el desarrollo del cuerpo lúteo el cual produce la progesterona y es esta la que determina un cambio de actitud de la hembra, lo que se evidencia con el rechazo del macho. El cuerpo lúteo en la vaca se detecta inmediatamente por ecografía y alcanza su tamaño máximo 9 a 10 días después de la ovulación (Singh *et al.*, 1997). La luteólisis en los bovinos es un mecanismo regulado por la oxitocina y la progesterona secretada por el propio cuerpo lúteo y por la PGF $2\alpha$  producida por el útero. Se cree que la exposición a altos niveles de progesterona, induce el desarrollo de los receptores de oxitocina en el endometrio y la producción de prostaglandinas las cuales al llegar al cuerpo lúteo a través del sistema porta útero-ovárico, causa su regresión (Hafez, 2000).

### 2.3.6 Cuerpo lúteo

El cuerpo lúteo es una glándula endocrina transitoria que se forma a partir del folículo ovulatorio, una vez producida la ovulación por el pico de LH se da el inicio a la organización estructural y funcional junto con el cambio celular para esta glándula. El cuerpo lúteo maduro está conformado por estos 2 tipos de células esteroideogénicas: Las células luteales pequeñas provienen de las células de la teca y responden a la LH con incremento en la secreción de progesterona, cuyo mecanismo es activando la proteína quinasa A vía segundo mensajero. Las células luteales grandes son de origen de la granulosa y contiene los receptores para la PGF2 $\alpha$ . Si la preñez no ocurre, el cuerpo lúteo empieza a regresionar y permite el crecimiento folicular para dar paso a una nueva onda folicular (Niswender *et al.*, 2000). El cuerpo lúteo se puede apreciar 4 días después de la ovulación a través de ecografía tras rectal y se observará como una estructura de ecogenicidad media con una zona central muy ecogénica. Algunos cuerpos lúteos presentan una cavidad central (antro), no ecogénica, repleta de líquido cuyo diámetro oscila entre 3 a 8 mm (Adams *et al.*, 1991b). El cuerpo lúteo producirá progesterona cuyos niveles se incrementarán de 4 a 6 días después de la monta (Aba *et al.*, 1995; Sumar y García, 1986), y alcanzará su diámetro máximo (10 a 12 mm) 8 días después del coito, en ese tiempo también logrará su máxima producción de progesterona ( $4,41 \pm 0,36$  ng/ml) (Aba *et al.*, 1995; Adams *et al.*, 1991a). De no haber gestación el cuerpo lúteo empezará a regresionar 8 ó 9 días después de la cópula, reduciéndose su tamaño a la mitad a los 12 días pos cópula, a su vez la producción de progesterona va disminuyendo, alcanzando sus niveles más bajos 14 o 15 días después de la monta (Adams *et al.*, 1992; Fernández-Baca *et al.*, 1970a; Sumar y Bravo, 1991; Sumar, 1988), y en este caso, las hembras vuelven a mostrar receptividad sexual 12 a 14 días después de la última cópula. Además, el eje hipotalámico hipofisiario de la alpaca es sensible al efecto inhibitorio de la P4 y los días de receptividad sexual que normalmente presentan las alpacas después de la ovulación se sugiere que es a causa de que los niveles de P4 secretados por el CL son aún insuficientes para ejercer el efecto inhibitorio (Leyva y García, 1999a).

En alpacas preñadas ocurre un comportamiento similar hasta el día 8, pero se produce una declinación alrededor del día 13 y posteriormente los valores se recuperan entre el día 18 y 23 (Fernández-Baca *et al.*, 1970a; Aba *et al.*, 1995), manteniéndose el cuerpo lúteo durante toda la gestación.

En llamas, con el uso de ultrasonografía, se observó que el CL alcanza su máximo diámetro en los días 5,9 (13mm) y 21,4 (16mm) post ovulación en no preñadas y preñadas respectivamente; habiendo en ambas una caída de progesterona en el día 8 post ovulación, que se recupera después del día 10 en preñadas (Adams *et al.*, 1991). Existe una disminución transitoria en las

concentraciones de P4 que fue observada en llamas y alpacas preñadas entre los días 8 y 18 post ovulación (Aba *et al.*, 1995).

La capacidad secretora del cuerpo lúteo es directamente proporcional a los niveles plasmáticos de progesterona o los niveles glucoronato de pregnanodiol hallados en la orina, ya que se ha comprobado que los cambios en las concentraciones de ambas sustancias son paralelas a las variaciones en el tamaño del cuerpo lúteo (Bravo, 1994). Niveles séricos de progesterona superiores a 0,32 ng/ml (1 nmol/l) indican la existencia de un cuerpo lúteo funcional (Sumar, 1988), sin embargo, Adams *et al.* (1991b), propone que para poder afirmar esto, es necesario encontrar concentraciones séricas mayores a 2 ng/ml (6,4 nmol/l).

Por estudios de ecografía mostraron que folículos en fase de regresión (7-10 mm de diámetro) hubo una falla en la ovulación a pesar de la liberación normal de LH en respuesta a la cópula. Estos folículos desarrollan tejido luteal con una cavidad central y tuvo una vida media de aproximadamente 5 días (Bravo *et al.*, 1991). Se postuló que las células de la granulosa en los folículos en regresión pueden tener la capacidad para la luteinización, pero han perdido la capacidad de secretar factores importantes para la ruptura del folículo.

La existencia de un cuerpo lúteo funcional no interrumpe las oleadas de crecimiento folicular, de manera que a los pocos días de la ovulación se forma un nuevo folículo dominante, pero el elevado nivel circulante de progesterona reduce el crecimiento folicular, de tal manera que el número de folículos que inician el crecimiento y el diámetro alcanzado por el folículo dominante son más reducidos. Sin embargo, el intervalo entre oleadas no sufre ninguna modificación (Adams *et al.*, 1990).

La luteólisis en alpacas que ovularon pero que no preñaron ocurre a los 9 -12 días post ovulación (Fernández-Baca *et al.*, 1970c). Leyva y García (1999b) encontraron que la prostaglandina exógena afecta la vida del CL cuando se administra después del día 4 de la fase luteal inducida, sugiriendo que la PGF2 $\alpha$  es el agente luteolítico en camélidos.

### 2.3.7 Reconocimiento maternal de la preñez y gestación

Después de la cópula los espermatozoides se dirigen hacia el sitio de fertilización (unión útero-tubal) de manera gradual, siendo el mayor número (82,7 %) que se localiza en el istmo a las 18 horas post cópula y esta unión constituye el principal reservorio de espermatozoides quedándose ahí hasta por 30 horas en las alpacas (Bravo *et al.*, 1996). Luego de producirse la fecundación en el oviducto el desarrollo del embrión es bastante rápido, es así que después de 4 días después de la cópula se pueden encontrar embriones de 4 a 8 células (Bravo *et al.*, 1996). Los embriones llegan al cuerno uterino a los 5 ó 6 días después de la ovulación en forma de blastocitos en eclosión

o recién eclosionados (Del Campo *et al.*, 1995), comienzan a elongarse entre los días 9 y 10 y se establece un estrecho contacto entre el trofoblasto y el endometrio en el día 12 de la gestación (Tibary, 2001).

El embrión inicia la implantación el día 14 post-ovulación y empieza en el cuerno izquierdo y luego se extiende hacia el cuerno derecho, sin embargo las interdigitaciones que se forman entre las células epiteliales del endometrio y el trofoblasto del embrión solo aparecen en el cuerno izquierdo. Estas zonas al parecer facilitan el reconocimiento maternal de la preñez y luego el intercambio gaseoso entre la madre y el feto (Oliveira *et al.*, 2003).

Fernández-Baca *et al.* (1970b), demostró que de 25% a 50% de los embriones mueren durante los primeros 30 días de gestación sin una causa determinada. Una de las causas que podría explicar este hecho, es que a pesar de que ambos ovarios contribuyen de manera similar a la producción de ovocitos, muy pocos de los embriones implantados en el cuerno derecho son capaces de sobrevivir al día 30 de gestación y ninguno consigue sobrevivir a partir del día 87. Otra posible causa sería el hecho de que en ambos cuernos los mecanismos involucrados en el reconocimiento maternal de la preñez sean distintos.

La placenta de los camélidos es del tipo epiteliocorial y no presenta cotiledones como zonas específicas de fijación como es en los rumiantes. El epitelio del corion muestra numerosas proyecciones semicirculares que se unen a sus correspondientes depresiones en la mucosa uterina (Fowler, 1989; Smith, 1985).

Los camélidos son las únicas especies en la que existe una membrana fetal extra, que deriva de la epidermis y recubre la totalidad de la superficie fetal fijándose a las mucosas de la nariz, labios, ojos, ano, prepucio y vulva; cuya función se cree que sería la lubricación durante el parto, facilitando la salida de feto (Fowler y Olander, 1990).

No se sabe con precisión sobre como se produce el reconocimiento maternal de la preñez en estas especies, sin embargo el 98% de las gestaciones se localizan en el cuerno izquierdo a pesar de que el cuerpo lúteo se presente en ambos ovarios y que los embriones que inician su existencia en el cuerno derecho tengan que migrar hacia el cuerno izquierdo (Fernández-Baca *et al.*, 1973; Sumar, 1997), esto indica que los Camélidos Sudamericanos presentan un mecanismo de control de la luteólisis diferente a los rumiantes.

El Reconocimiento maternal de la preñez (RMP) en vacunos y ovinos involucra la producción de proteínas interferón tipo 1 por parte del conceptus suprimiendo el desarrollo de receptores de oxitocina y la generación de episodios luteolíticos por la PGF2 $\alpha$ ; en vacas el RMP ocurre a partir del día 16 y en ovejas entre el día 12 y 22 de gestación (Bazer *et al.*, 1986; Lamming *et al.*, 1995).

El RMP en la cerda ocurre entre los 11 a 16 días de gestación e involucra la producción de estrógeno por parte del conceptus que ejerce un efecto antiluteolítico resultando en el secuestro de la PGF2 $\alpha$  dentro del lumen uterino (Bazer *et al.*, 1986). De manera similar se cree que en los camélidos sudamericanos el estradiol es usado como señal para el reconocimiento maternal de la preñez. En el camello (*Camelus dromedarius*), estudios en embriones de 8 a 22 días post ovulación, donde se incubaron membranas extra-embriónicas, indicaron que estos producían proteínas que diferían del interferón de ovinos o bovinos, más si existía una alta actividad aromataza con la producción de 17 $\beta$ -estradiol, sugiriendo que serían los estrógenos quienes provocan la señal para el mantenimiento de la función luteal (Skidmore *et al.*, 1994). La producción de estrógeno por el embrión correspondería al reconocimiento maternal de la preñez (Skidmore *et al.*, 1997). De igual manera Powell *et al.* (2007), demostró que los blastocistos de llama producen cantidades crecientes de 17 $\beta$ -estradiol entre los días 7 y 15 de gestación, con un marcado incremento entre los días 11 y 13, justo cuando el blastocisto se alarga. En el mismo estudio se demostró que la aplicación diaria de 10 mg de benzoato de estradiol entre los días 7 y 15, provoca un retraso en la luteólisis y el mantenimiento de la secreción de progesterona, por lo que se asume que la secreción de estradiol, podría significar la señal para el reconocimiento maternal de la gestación en las llamas y alpacas. Se cree además, que el estradiol podría intervenir en la migración del embrión al cuerno contra lateral, al provocar un incremento local de la contractilidad miometrial.

En las llamas y alpacas, el cuerpo lúteo es necesario durante la totalidad de la gestación (Sumar, 1988) y su eliminación o la administración de PGF2 $\alpha$  o de sus análogos provocan la interrupción de la gestación a las 24 a 72 horas en cualquier etapa de la misma (Smith *et al.*, 2000; Sumar, 1988).

Los niveles séricos de progesterona se mantienen por encima de los 2 ng/ml durante toda la gestación, con ligeras fluctuaciones y con una reducción ligera durante las dos últimas semanas de gestación, sin embargo, 24 horas antes del parto la caída de progesterona es abrupta (Aba, 1998; León *et al.*, 1990). La importancia de la progesterona durante la preñez radica en que induce la quietud del miometrio, bloqueando el efecto inductor de receptores  $\alpha$ -adrenérgicos del estradiol, cuya estimulación causa contracciones, además promueve la proliferación de las células del endometrio para soportar la implantación del embrión y el desarrollo a término del feto (Hafez, 2000).

En alpacas el largo de gestación en promedio es de 342 y 345 días para Huacayas y Suris respectivamente (San Martín *et al.*, 1968), mientras que en las llamas dura 350 $\pm$ 4.5días (León *et al.*, 1990).



El sexo del feto pudo ser detectado a los 55 a 60 días de gestación, debido a la clara diferenciación de sus genitales externos (Fernández-Baca, 1971; Bravo y Varela, 1993). El cuerpo se halló totalmente cubierto por fibra al día 240 de gestación (Bravo y Varela, 1993).

#### 2.3.8 Mortalidad embrionaria

Un factor que afecta la eficiencia reproductiva en muchas especies domésticas es la mortalidad embrionaria, siendo esta pérdida más altas en camélidos sudamericanos (Fernández-Baca *et al.*, 1970b).

Se verifica que los índices de fertilización a los 3 días post servicio son altos, mayor al 85%, los porcentajes de alpacas preñadas a los 30 días post servicio son mucho menores y existe una pérdida embrionaria aproximada del 50% (Fernández-Baca *et al.*, 1970b; Fernández-Baca, 1971).

La presencia de progesterona secretada por el CL es necesaria para el mantenimiento de la preñez en la alpaca (Novoa, 1991; Sumar, 1997); demostrándose que el CL es indispensable durante los 10 primeros meses para sostener la preñez (Novoa, 1991).

Una hipótesis planteada, no demostrada, por Sumar (1997), señala que si la cópula se produce en el estadio de crecimiento o regresión, se daría ovulación y fertilización, pero el CL no prosperaría más adelante quizá por la menor LH liberada, produciéndose la mortalidad embrionaria temprana; pero estudios fisiológicos y endocrinológicos indicarían que en folículos en regresión, es decir en los atrésicos con un mayor contenido de testosterona no serían susceptibles la ovulación (Hafez, 1996) tal como lo reportado por Bravo *et al.* (1991); en tanto si la cópula se da en el estadio de maduración, el CL tendría un adecuado funcionamiento. Con mayor liberación de LH, esto debido a que hay un mejor estímulo a nivel de la hipófisis lo que reforzaría el establecimiento y desarrollo del CL para una eficiente secreción de P4 (Leyva y García, 1999d).

Sin embargo, la atresia folicular es una condición donde algunas células de la teca están muriendo y otras permanecen aún viables, todavía no se conoce cuando estos cambios atrésicos de las células que lo rodean empiezan a afectar al oocito, por lo cual a pesar de experimentar atresia los folículos mantienen su función, respondiendo a las gonadotropinas secretando cantidades considerables de hormonas esteroideas (Zeuner *et al.*, 2002); pero a medida que progresa la atresia se dan cambios significativos en el fluido folicular con respecto a folículos sanos (Rosales *et al.*, 2000).

Greenwald y Roy (1994) reportan que el oocito de folículos atrésicos es muy resistente a la degeneración tal es así que luego de ser cultivados por 74 horas con FSH, LH y estradiol y ser

transferidos al oviducto en ovejas, por inseminación artificial desarrollaron a blastocisto en 46% de los casos.

Leyva y García (1999c) sugieren que alpacas receptivas con previa presencia de CL responden con eficiencia a la inducción de la ovulación y establecimiento de fertilización y gestación, debido quizás a una previa sensibilización de la P4 endógena sobre el eje hipotálamo-hipofisiario que resultaría en una mejor respuesta de secreción de hormonas gonadotrópicas sobre el establecimiento y desarrollo del CL de la preñez.

Leyva y García (2000) señalan que por efecto del estradiol (exógeno) probablemente sobre la función del CL magnifiquen las fallas en el establecimiento y/o viabilidad de la fertilización y subsecuentemente en la sobrevivencia embrionaria, sugiriendo que un efecto similar tendrían los folículos estrogénicos.

Entre los días 8 y 11 se produce un descenso de los niveles de P4 así como una reducción del diámetro del CL, lo que coincide con el inicio de la inducción uterina para la regresión del CL y también con el momento de reconocimiento maternal de la preñez, el cual también estaría involucrado con la mortalidad embrionaria (Sumar, 2000).

Huanca W. (1997) señala al desbalance nutricional como causa de mortalidad embrionaria; sin embargo no es considerada una causa determinante ni la principal en camélidos (Knight *et al.*, 1995), aunque en bovinos se ha demostrado que la nutrición tiene un efecto directo en la calidad del oocito y en el desarrollo embrionario temprano debido a que influiría en la expresión de los patrones genéticos de los factores intrafoliculares que participan en la maduración del oocito (Webb *et al.*, 1999).

Factores como agentes infecciosos (Fernández-Baca, 1971), falta de balances hormonales, factores inmunológicos, inadecuado ambiente uterino y aberraciones cromosómicas estarían comprometidos con la mortalidad embrionaria (Sumar, 1997). En otras especies se viene recientemente implicando a la leptina en la regulación de la fertilidad (Baldelli *et al.*, 2002), encontrándose que la deficiencia o ausencia de leptina estaría asociada con infertilidad (Smith *et al.*, 2002).

## 2.4 Biotecnología reproductiva en camélidos sudamericanos

### 2.4.1 Protocolos de superovulación

Los protocolos superestimulatorios en camélidos se basan en la administración de la Hormona Folículo Estimulante (FSH) y de la Gonadotropina Coriónica Equina (eCG) durante la fase luteal inducida con GnRH o hCG o creando una fase luteal artificial mediante el uso de progestágenos. Así mismo, las gonadotropinas han sido administradas durante la fase de receptividad sexual. Luego del tratamiento superestimulatorio, las hembras son copuladas seguido de una administración de GnRH o Gonadotropina Coriónica humana (hCG) para inducir o reforzar la ovulación. Los tratamientos superestimulatorios dependiendo de la fase son:

A. Fase luteal inducida por ovulación (Bourke *et al.*, 1995): GnRH o hCG es administrada ante la presencia de un folículo  $\geq 9$  mm (día, 0). Una dosis de 1000 IU de eCG es administrada intramuscularmente al día 7. Al día 9 una dosis luteolítica de prostaglandina es administrada y seguido de una dosis de 750 IU of hCG para inducir ovulación cuando los folículos alcancen un diámetro de 9 a 13 mm.

B. Fase luteal simulada por el uso de progestágenos (Bourke *et al.*, 1992, 1994; Correa *et al.*, 1994; Aller *et al.*, 2002): La fase luteal ha sido estimulada por implante de progesterona/progestágenos (CIDR, Norgestomet) o administración diaria de progesterona durante 7 a 12 días. Los tratamientos gonadotróficos consistieron en dosis de 20 mg pFSH (NIH-FSH-P1) intramuscular cada 12 h por 5 días (dosis total de 200 mg) o administración de 1000 IU de eCG, comenzando 48 h previas al retiro de los implantes de progestágenos. Finalmente una dosis de 750 IU de eCG o 8  $\mu$ g de GnRH fue aplicada para inducir la ovulación.

C. Fase sexualmente receptiva (Correa *et al.*, 1997; Ratto *et al.*, 1997): Hembras con manifestación continua de receptividad sexual durante 5 días consecutivos fueron tratadas con una dosis de 20 mg pFSH (NIH-FSH-P1) intramuscular cada 12 horas durante 5 días (dosis total de 200 mg). Posterior a la última dosis de FSH, las hembras fueron tratadas con una dosis de 750 IU of hCG para inducir ovulación.

La FSH es una hormona glucoproteíca cuyo peso molecular es de 37.300 Daltons (Grimek *et al.*, 1979). Posee dos subunidades, una subunidad  $\alpha$  que es estructuralmente similar a la LH y una subunidad  $\beta$  responsable de su actividad biológica específica. Además, tiene un bajo contenido en ácido siálico lo que provoca que su vida media sea muy corto, aproximadamente de 110 minutos (Moor *et al.*, 1984), lo que obliga a realizar aplicaciones repetidas para conseguir una buena estimulación ovárica.

Su principal función en la hembra, es inducir el crecimiento folicular estimulando la proliferación de las células de la granulosa de folículos antrales, las cuales presentan receptores específicos para esta hormona; cuya síntesis es realizada por las células basófilas de la región central de la adenohipófisis (Monniaux *et al.*, 1983). La FSH, por si sola, no estimula la secreción de estrógenos en el ovario, sino que para ello necesita de la presencia de LH (Hafez y Hafez, 2002).

La hormona eCG fue descubierta por Cole y Hart en 1930 al comprobar como la administración de suero de yegua gestante estimulo el crecimiento folicular incrementando la tasa de ovulación en un grupo de ratas, estableciendo así la base del tratamiento superovulatorio. Esta hormona es una glucoproteína presente en grandes cantidades en el suero de yegua entre los días 46 y 130 de gestación y presenta en una misma molécula actividades biológicas propias de la FSH y de la LH (González-Mencio *et al.*, 1978). Su potencia se expresa en unidades internacionales, siendo la actividad gonadotrófica específica de 1 UI igual a 0,25 mg de una preparación estándar mantenida por la Organización Mundial de la Salud. La forma comercial se obtiene a partir de la purificación del suero recogido a yeguas gestantes y su posterior liofilización. La molécula está compuesta por dos subunidades una  $\alpha$  y otra  $\beta$ . La primera es la responsable de las actividades FSH y LH, mientras que la subunidad  $\beta$  determina la amplitud de su actividad. El alto contenido en ácido siálico de la molécula de eCG le confiere una larga vida media, que supera ampliamente a las de la FSH y la LH. Su vida media llega a las 40 horas, aunque puede persistir hasta 10 días (Schams *et al.*, 1978). Esto permite inducir la respuesta superovulatoria con una única administración, habiéndose demostrado que las administraciones múltiples no mejoran la tasa de ovulación (Hafez y Hafez, 2002). La dosis de eCG más adecuada para conseguir la superovulación en las alpacas ha sido establecida entre 500 y 750 UI, seguida de 750 UI de hCG para inducir la ovulación (Novoa *et al.*, 1999). El empleo de dosis superiores determina un considerable incremento de la frecuencia de aparición de folículos quísticos (Bravo *et al.*, 1995a).

Existen diversos estudios en los que se ha comparado el efecto de ambas gonadotropinas en la estimulación ovárica de los camélidos domésticos, obteniéndose resultados variables. Algunos trabajos realizados en llamas indican que no existen diferencias en la tasa de respuesta ovárica a ambas sustancias  $17,9 \pm 2,2$  folículos tras el tratamiento con FSH y  $17,7 \pm 2,2$  folículos en las tratadas con eCG (Ratto *et al.*, 2005). Sin embargo, otros autores señalan que el tratamiento con pFSH permite obtener mejores resultados que la eCG cuando se evalúan el número de folículos que crecen y el número de cuerpos lúteos formados tras la ovulación (Correa *et al.*, 1997). El efecto de estas hormonas podría estar condicionado por la especie. Así, en un trabajo en el que se compara la respuesta de las alpacas y las llamas sometidas a la estimulación ovárica con eCG, iniciando el tratamiento durante la emergencia de las ondas de crecimiento folicular, se

comprueba que en las llamas se produjo el desarrollo de  $12,8 \pm 1,4$  folículos y  $8,1 \pm 1,0$  cuerpos lúteos, mientras que en las alpacas solamente se desarrollaron  $7,5 \pm 1,2$  folículos y  $5,9 \pm 1,3$  cuerpos lúteos (Huanca W. *et al.*, 2006a).

#### 2.4.2 Transferencia de embriones en alpacas

Una alternativa tecnológica para mejorar la productividad de las alpacas es el uso de la transferencia de embriones (Ratto *et al.*, 2013). Novoa y Sumar (1968) proporcionaron los primeros datos sobre colección de embriones que fue realizado en oviductos de alpaca, previa laparotomía y la primera cría nacida por transferencia fue reportada por Sumar y Franco (1974). Estos investigadores utilizaron procedimientos quirúrgicos tanto para la obtención de los embriones, como para su posterior transferencia a las receptoras. Posteriormente se desarrollaron métodos no quirúrgicos para la recuperación y transferencia de embriones que fueron inicialmente aplicados en llamas permitiendo el nacimiento de una cría viva tras 326 días de gestación (Wilson Wiepz y Chapman, 1985). Otros estudios confirman que la recuperación de embriones en estadio de blastocisto puede ser realizada a los 7 días pos servicio mediante técnicas no quirúrgicas en llamas y alpacas. La técnica no quirúrgica es similar a la descrita en vacuno y consiste en lavar los cuernos uterinos con PBS de Dulbecco's (Huanca W. *et al.*, 2004).

La ovulación en alpacas y llamas puede ser inducida por la administración de hormonas exógenas como la Gonadotropina Coriónica Humana (hCG), Hormona Liberadora de la Gonadotropina (GnRH) (Bourke *et al.*, 1995) o Hormona Luteinizante (LH) (Huanca W. *et al.*, 2001). La ovulación en alpacas ocurre alrededor de las  $27,4 \pm 2,5$  y  $26,8 \pm 1,8$  horas después de la aplicación de plasma seminal y GnRH respectivamente. (Huanca F., 2014). El uso de protocolos de superestimulación ovárica, con el propósito de inducir el crecimiento, maduración y ovulación de un gran número de folículos incluye el uso de Hormona Folículo Estimulante (FSH) o Gonadotropina Coriónica Equina (eCG), durante una fase luteal inducida con la aplicación de Hormonas hipotálamicas (GnRH); fase luteal artificial con la aplicación de progestágenos exógenos y durante una fase de receptividad sexual (Bourke *et al.*, 1992; Correa *et al.*, 1994). Las respuestas obtenidas son variables, alta incidencia de folículos luteinizados, baja tasa de recuperación embrionaria (0–2.3 embriones/ donadora), lo cual demuestra las variaciones en la respuesta de las donantes a los tratamientos de inducción de ovulaciones múltiples y en la cantidad y calidad de los embriones recuperados (Del Campo M. *et al.*, 1995).

En estudios orientados a la inhibición del desarrollo folicular con tratamientos con progesterona (Leyva y García 1999a), señalan que ante la inserción de un progestágeno intravaginal en llamas en cualquier momento del estadio folicular inhibe el crecimiento folicular y si al final del tratamiento se aplica 500 UI de eCG, se obtiene  $5.2 \pm 2.5$  folículos y  $2.1 \pm 2.9$  embriones

recuperados (Chaves *et al.*, 2002). En alpacas, se realizó un estudio con la aplicación de un progestágeno intravaginal y la administración de 1000 UI de eCG, obteniéndose una alta respuesta ovárica con el número de Cuerpos lúteos (Velásquez y Novoa 1999). Ratto *et al.* (2003) reportan que es posible obtener una respuesta ovárica adecuada en alpacas y llamas, si los animales son sometidos previamente a un protocolo de sincronización de onda folicular, cuyo estímulo hormonal se inicie durante la emergencia de las ondas de crecimiento folicular. Se ha reportado también que al evaluar la respuesta de ambas hormonas, FSH y eCG, en llamas con presencia de folículos  $\geq 6$  mm sometidas a un protocolo de estimulación ovárica fue de  $17.9 \pm 2.2$  al tratamiento con FSH y  $17.7 \pm 2.2$  folículos con eCG (Ratto *et al.*, 2005). Se evidencio que existe una buena respuesta ovárica a la acción de ambas hormonas, sin diferencias significativas entre ambas. Se sometió a un protocolo hormonal de estimulación ovárica con eCG a alpacas y llamas iniciando el tratamiento durante la emergencia de las ondas de crecimiento folicular, como resultado permitió obtener el desarrollo de  $12.8 \pm 1.4$  folículos y  $8.1 \pm 1.0$  cuerpos lúteo en llamas y  $7.5 \pm 1.2$  folículos y  $5.9 \pm 1.3$  cuerpos lúteo en alpacas (Huanca W. *et al.*, 2006a). Resultados sobre recuperación y transferencia de embriones en llamas han sido descritos por Huanca W. *et al.* (2006b) señalando la recuperación de  $4.8 \pm 0.9$  embriones, con una tasa de recuperación 66,1 % del número posible de embriones, determinado en base al número de cuerpos lúteos. La tasa de preñez fue del 68.9 %. En alpacas, se recuperaron  $1.6 \pm 0.3$ , respuesta diferente de la observada en llamas, con una tasa de recuperación del 23.6 % de embriones posibles, con una tasa de preñez del 30.0 %. De manera similar, se ha reportado la recuperación de 37 embriones de 47 hembras no estimuladas (79 %), de las cuales resultaron en un 41 % de preñez al ser transferidas a receptoras (Taylor *et al.*, 2001). Otros estudios de transferencia de embriones obtuvieron resultados de una tasa de recuperación de embriones de 4.8 embriones/animal (Huanca W. *et al.*, 2009) en llamas y 2.7 embriones/animal en alpacas (Huanca T., 2008); también se ha reportado la recuperación de embriones sin superovulación con una tasa de 67% y 73% (Vaughan, 2012, Huanca W. *et al.*, 2009).

La mayor parte de los embriones recuperados se encuentran en fase de blastocisto eclosionado y su diámetro medio es de  $527,1 \pm 168,0$   $\mu\text{m}$  en llamas y de  $534 \pm 151,4$   $\mu\text{m}$  en alpacas (Del Campo *et al.*, 2002). El 35% de embriones recolectados en las llamas eran de tamaño pequeño ( $<450$   $\mu\text{m}$  de diámetro), el 40% de tamaño mediano (451 a 650  $\mu\text{m}$ ) y un 24% de un tamaño grande ( $> 651$   $\mu\text{m}$ ) esta distribución fue similar en las alpacas (Del Campo *et al.*, 2002). Bourke *et al.* 1992 señalan que únicamente es posible obtener mórulas cuando se realiza el lavado del oviducto 3 días después de la inseminación.

La recuperación de las hembras donadoras fue evaluada, se observó una recuperación del tracto reproductivo a las 3 semanas posteriores al lavado uterino y una tasa de preñez luego de ser

servidas, del 40 %, con un solo servicio (Huanca W. *et al.*, 2006b). Por ello estos resultados sugieren la posibilidad de obtener resultados satisfactorios con los protocolos de superestimulación ovárica en alpacas y llamas, permitiendo obtener embriones de buena calidad y viabilidad y que al ser transferidos permiten obtener tasas de preñez sobre el 50 %. Igualmente, la rápida recuperación de las hembras donadoras, permite señalar que una vez realizado el protocolo de estimulación hormonal, las hembras requieren un descanso aproximado de un mes, con tasas de preñez muy similares a las obtenidas bajo condiciones de crianza de los productores.

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1 Lugar de estudio**

El estudio fue realizado durante los meses de Enero a Abril del 2015, en el Centro de Investigación y Producción QUIMSACHATA, anexo de la Estación Experimental ILLPA, del Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA), ubicada a 4200 msnm, 15°45' de latitud sur y 70°34' longitud oeste, en el distrito de Cabanillas, provincia de San Román, en el departamento de Puno, zona agroecológica Puna Seca. Su clima es de tipo semi-seco frío, siendo la temperatura media de 7°C (máxima 18°C y mínima -13°C). La precipitación pluvial oscila entre 400 y 688 mm/año, siendo los meses más húmedos los comprendidos entre diciembre y marzo.

#### **3.2 Unidades Experimentales**

Se utilizaron un total de 53 alpacas adultas de 5 a 8 años de edad, vacías, con descendencia registrada y sin cría al pie. Los animales pertenecen a la variedad Huacaya. Para efectos del estudio fueron seleccionadas en base a la presencia de un folículo pre ovulatorio ( $\geq 7$  mm), determinado mediante ecografía. Los animales fueron mantenidos separados del contacto con los machos, hasta el momento del empadre controlado. Los machos empleados pertenecían al plantel de reproductores y tenían descendencia registrada. Todos los animales empleados recibieron las mismas condiciones de manejo y pastoreo.

#### **3.3 Recuperación y evaluación de la calidad de Embriones**

La recuperación de Embriones fue realizada en base al protocolo descrito por Huanca W. *et al.* (2009). Los animales fueron sujetados en un brete y se les colocó anestesia epidural entre la vértebra sacra 2 y la primera coccígea, con 2 ml de lidocaína al 2 %. Se procedió a realizar el lavado con una pipeta Foley y con 100 ml de solución de lavado (Buffer Fosfato Salino + Antibiótico) por alpaca. La solución recuperada se colocaba en el filtro EM COM, con el fin de facilitar la separación del embrión del medio y se procedía a colocar en una placa Petri para



realizar la búsqueda de los embriones por medio del estereoscopio. Los embriones fueron clasificados usando la escala mencionada en el manual de la International Embryo Transfer Society – IETS (Stringfellow y Givens, 2011), que clasifica los embriones en cuatro calidades: Excelente, Bueno, Regular, Pobre o Malo.

- Excelente: Embrión ideal, esférico, simétrico, con células de tamaño, color y textura uniforme.
- Bueno: Embrión con pequeñas imperfecciones con algunas blastómeras de formas irregulares.
- Regular: Embrión con presencia de blastómeras de formas irregulares, con presencia de vesículas y algunas células degeneradas.
- Pobre: Embrión con numerosas blastómeras de formas irregulares, células degeneradas, células de diversos tamaños.

### 3.4 Procedimiento Experimental

#### a. Evaluación ecográfica pre-experimental

Antes de empezar con la selección para la sincronización de la onda folicular de las alpacas se revisó su historial de descendencia registrada, obteniendo un grupo de 53 alpacas aptas para ser utilizadas para la evaluación por ecografía. En el día de inicio del pre-experimento se realizó la selección de hembras en base a la presencia de folículos ováricos  $\geq 7$  mm de diámetro mediante un ecógrafo portátil equipado con un transductor lineal de 7.5Mhz, una vez detectada la presencia del folículo se les administró 1 ml de un análogo de GnRH (0.0042 mg de acetato de buserelina) (Conceptal, Intervet International GmbH, Alemania), vía inyección intramuscular para la inducción de ovulación y sincronización de la onda folicular. Después de la aplicación de GnRH, los animales fueron evaluados por ecografía para verificar la ovulación, en base al criterio de la desaparición del folículo dominante previamente determinado. Este mismo esquema se realizó para todos los animales de experimentación. b.

#### b. Diseño experimental

A partir del día 9 post-sincronización los animales fueron ecografiados diariamente, para distribuirlos a los grupos de tratamiento, según fueron determinados el estadio con la fase de crecimiento respectiva, T<sub>1</sub>: Fase crecimiento; T<sub>2</sub>: Fase estática y T<sub>3</sub>: Fase regresión. La inclusión en cada tratamiento fue determinada en base al crecimiento del folículo dominante por dos días consecutivos, para el

T<sub>1</sub>, mantenimiento del folículo dominante por dos días consecutivos para el T<sub>2</sub> y disminución del tamaño del folículo dominante por dos días consecutivos para el T<sub>3</sub>. En todos los casos se consideró un folículo con un tamaño  $\geq$  a 7 mm, con un total de 53 alpacas.

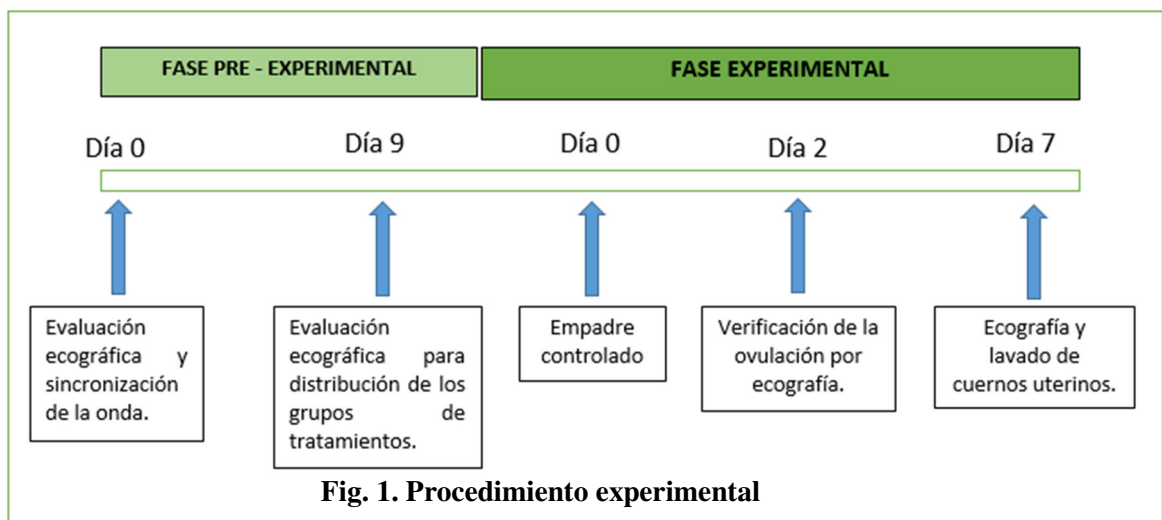
Posteriormente a la ecografía se les realizó el empadre controlado dirigido durante un tiempo mayor a 15 minutos para tratar de asegurar la ovulación, el día del empadre fue considerado el día 0 y las evaluaciones ecográficas posteriores se realizaron al Día 2 (ocurrencia de la ovulación) y Día 7 (tamaño del cuerpo lúteo) y el lavado de cuernos uterinos. La distribución de animales en los respectivos tratamientos, se presenta en el cuadro 1.

**Cuadro 1. Diseño experimental**

GRUPO	TRATAMIENTO	N° DE ANIMALES
T <sub>1</sub>	Crecimiento	16
T <sub>2</sub>	Estática	19
T <sub>3</sub>	Regresión	18

#### c. Lavado y Recuperación de embriones

Se realizó el lavado uterino el día 7 post servicio en cada animal previa evaluación ecográfica para la observación del cuerpo lúteo.



**Fig. 1. Procedimiento experimental**

### 3.5 Análisis Estadístico

Los datos fueron analizados utilizando el paquete estadístico Stata 11.0 (Stata Corp.). La prueba del análisis de varianza (ANOVA) de una sola vía fue utilizada para analizar la diferencia entre grupos con respecto a la media del tamaño del folículo dominante y a la media del tamaño del cuerpo lúteo al día 7 post cópula. Las variables tasa de ovulación y recuperación embrionaria fueron evaluadas con la prueba Chi-cuadrado y la calidad embrionaria entre los grupos de estudio fueron evaluadas con la prueba Kruskal Wallis. El nivel de significancia empleado para el análisis de los resultados fue de  $p < 0,05$ .

#### IV. RESULTADOS.

##### 4.1 Respuesta Ovárica

La respuesta ovárica, se ha considerado en base a los criterios de tamaño del folículo dominante, tasa de ovulación y tamaño del cuerpo lúteo, por ser los eventos que suceden post monta.

##### 4.1.1 Tamaño del Folículo dominante

El tamaño del folículo dominante en el momento del servicio fue similar para los tres grupos tratados. En el grupo de tratamiento  $T_1$ : Crecimiento se encontró  $7.81 \pm 0.31$ mm de tamaño del folículo dominante, en los demás tratamientos los tamaños foliculares fueron  $T_2 = 7.78 \pm 0.81$ mm y  $T_3 = 7.32 \pm 0.38$ mm, no se encontró diferencia significativa en el tamaño del folículo dominante, según el estadío de desarrollo de la onda folicular ( $p > 0.01$ ). (Cuadro 2)

**Cuadro 2. Tamaño del folículo dominante al inicio del empadre en alpacas**

Grupo de tratamiento	Número de hembras al momento de la cópula	Promedio $\pm$ DS (mm)	Mínimo (mm)	Máximo (mm)
$T_1$ :Crecimiento	n = 16	$7.81 \pm 0.31$	7.5	8
$T_2$ :Estática	n = 19	$7.78 \pm 0.81$	7	10
$T_3$ :Regresión	n =18	$7.32 \pm 0.38$	7	8

#### 4.1.2 Tasa de ovulación

De un total de 53 alpacas empadradas, el 96,2% ( $n = 51$ ) presentaron ovulación al día 2 post cópula, con formación de cuerpo lúteo al día 7. Se encontró 100% de ovulación en alpacas del grupo T<sub>2</sub> y T<sub>3</sub>; en el grupo T<sub>1</sub> la tasa de ovulación fue 87.5%, no se encontró diferencia significativa en la tasa de ovulación según el estadio de desarrollo de la onda folicular ( $p \geq 0.05$ ). (Cuadro 3)

**Cuadro 3. Tasa de ovulación en diferentes estadios de desarrollo de la onda folicular**

Grupo de evaluación	Número de hembras	Tasa de ovulación	N.º de hembras ovuladas
<b>T<sub>1</sub>: Crecimiento</b>	16	87.50 %	14
<b>T<sub>2</sub>: Estática</b>	19	100 %	19
<b>T<sub>3</sub>: Regresión</b>	18	100 %	18
<b>Total</b>	53	96.2 %	51

#### 4.1.3 Tamaño del Cuerpo lúteo

El tamaño del cuerpo lúteo en el momento del lavado de cuernos uterinos fue similar para los tres grupos tratados, se encontró  $10.00 \pm 1.66$ mm de tamaño del cuerpo lúteo en el primer grupo T<sub>1</sub>: Crecimiento, en los demás tratamientos los tamaños de cuerpo lúteo fueron T<sub>2</sub>: Estática= $10.05 \pm 1.31$ mm y T<sub>3</sub>: Regresión= $10.09 \pm 2.01$ mm, sin diferencia significativa entre el tamaño del cuerpo lúteo y el estadio de desarrollo de la onda folicular ( $p \geq 0.05$ ). (Cuadro 4)

**Cuadro 4. Tamaño del cuerpo lúteo al inicio del lavado de cuernos uterinos en alpacas**

Grupo de tratamiento	Número de hembras	Promedio $\pm$ Desvío estándar(mm)	Mínimo (mm)	Máximo (mm)
<b>T<sub>1</sub>:Crecimiento</b>	n = 14	$10.00 \pm 1.66$	7	13
<b>T<sub>2</sub>:Estática</b>	n = 19	$10.05 \pm 1.31$	8	14
<b>T<sub>3</sub>:Regresión</b>	n = 18	$10.09 \pm 2.01$	8	14

#### 4.2 Tasa de recuperación de embriones

De un total de 51 alpacas empadradas, el 52.94% ( $n = 27$ ) se recuperaron embriones al día 7 post monta. En el Grupo T<sub>1</sub>: Crecimiento, se recuperó 64.3% embriones (9/14). En el Grupo T<sub>2</sub>: Estática, se recuperó 47.4% (9/19) y en el Grupo T<sub>3</sub>: Regresión, se logró una tasa de recuperación del 50.0% (9/18), no se encontró diferencias significativas ( $p \geq 0.05$ ). (Cuadro 5)

**Cuadro 5. Recuperación de embriones al lavado de cuernos uterinos en alpacas**

Grupo de evaluación	Número de hembras	Tasa de recuperación	Nº de embriones recuperados
T <sub>1</sub> :Crecimiento	n = 14	64.3 %	n <sub>1</sub> = 9
T <sub>2</sub> :Estática	n = 19	47.4 %	n <sub>2</sub> = 9
T <sub>3</sub> :Regresión	n = 18	50.0 %	n <sub>3</sub> = 9
<b>Total</b>	n = 51	52.94 %	n <sub>t</sub> = 27

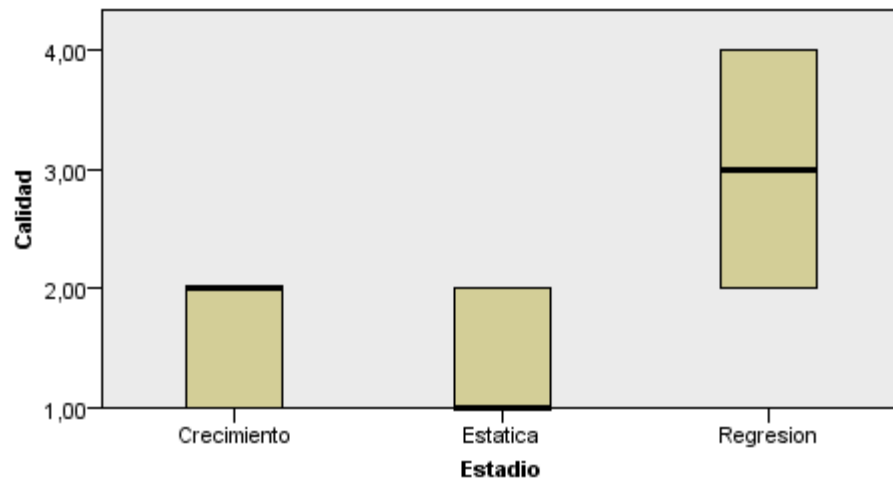
#### 4.3 Calidad embrionaria

Los resultados obtenidos para cada grupo fue una recuperación de 9 embriones. Determinándose que la calidad embrionaria en el Grupo T<sub>1</sub>: Crecimiento, ( $n_1=9$ ): 44.4% excelente y 55.6% buena calidad, en el Grupo T<sub>2</sub>: Estática, ( $n_2=9$ ): 66.7% excelente y 33.3% buena calidad y en el Grupo T<sub>3</sub>: Regresión, ( $n_3=9$ ): 33.3% buena, 33.3% regular y 33.4% mala calidad. Con diferencia significativa entre tratamiento 1 y 2 respecto al Tratamiento T<sub>3</sub> ( $p<0.01$ ). (Cuadro 6)

**Cuadro 6. Tabla cruzada Calidad embrionaria\*Estadio de desarrollo**

			Estadío			Total
			Crecimiento	Estática	Regresión	
Calidad	Excelente	Recuento	4	6	0	10
		% dentro del estadio	44,4%	66,7%	0,0%	37,0%
	Buena	Recuento	5	3	3	11
		% dentro del estadio	55,6%	33,3%	33,3%	40,7%
	Regular	Recuento	0	0	3	3
		% dentro del estadio	0,0%	0,0%	33,3%	11,1%
	Mala	Recuento	0	0	3	3
		% dentro del estadio	0,0%	0,0%	33,3%	11,1%
Total		Recuento	9	9	9	27
		% dentro del estadio	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

**Fig. 2. Gráfico de la Prueba de Kruskal-  
Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes**



**Figura 2.** En el gráfico se observa las diferencias entre el estadio de desarrollo de la onda folicular en su estadio de estática y crecimiento con el de regresión.

## V. DISCUSIÓN

Los resultados del presente estudio sugieren que las tasas de ovulación y de recuperación embrionaria no estarían afectadas por el estadio del desarrollo de la onda folicular al momento de la monta en alpacas. Hay que mencionar que 02 alpacas del tratamiento 1: Fase de crecimiento, fueron excluidas del estudio para la evaluación de la tasa de recuperación. Sin embargo, hay que señalar que, aunque no existe diferencia estadística, la tasa de ovulación fue menor en el T<sub>1</sub>, a pesar que el tamaño del folículo dominante es  $7,81 \pm 0,31$  mm en fase de crecimiento al momento de la cópula, presentando una mayor tasa de recuperación embrionaria (64,3%) comparados con los demás grupos en estudio.

La tasa de ovulación en el presente trabajo estarían influenciadas por el estadio de desarrollo del folículo dominante al momento del empadre, tal como indica Bravo *et al.* (1991), que señala que hembras con folículos mayores a 7 mm inducen la secreción de cantidades de LH hipofisiaria (55.1 a 62.4 ng/ml/h) suficiente para producir la ovulación y formación de un cuerpo lúteo normal. La falta de ocurrencia de ovulación en los 02 animales del tratamiento 1, podría ser explicada, considerando la duración total del estadio de crecimiento señalada por Bravo *et al.* (1990) de  $4,8 \pm 1,5$  días y la tasa de crecimiento de  $0,43 \pm 0,02$  mm/día según lo señala Sumar *et al.* (1993), que estos animales, si bien presentan un folículo en fase de crecimiento, posiblemente aun no adquieren sensibilidad al efecto de la Hormona Luteinizante para la ocurrencia de la ovulación o a un posible inadecuado estímulo de la monta, según lo señala Fernández-Baca *et al.* (1970a).

Por otro lado, la tasa de ovulación según Ratto *et al.* (2003) fue del 90%, donde sugiere que los folículos en fase de crecimiento, estática y regresión fueron capaces de ovular, similar al porcentaje registrado en el presente estudio, con la ocurrencia del 96.2 % de animales que ovularon, distribuidos en 87.5 % para el T1 y 100 % para T2 y T3.



Es importante mencionar que en la totalidad de las alpacas que ovularon (n=51), se determinó la formación de un cuerpo lúteo, considerado por algunos autores como expresión de gestación temprana. El tamaño promedio del cuerpo lúteo para todos los grupos en estudio, fue similar y no presentó diferencia significativa al día 7 post cópula, día en el cual se hizo el lavado de cuernos uterinos para la recuperación embrionaria. Estos resultados sugieren que la formación del cuerpo lúteo sería independiente del estadio y tamaño del folículo presente al momento de la cópula.

La calidad embrionaria fue estimada en base a los criterios señalados en el manual de la Sociedad Internacional de Transferencia de Embriones (IETS) (Stringfellow y Givens, 2011). Según se indica en el cuadro N° 6, los estadios de crecimiento de la onda folicular presentan efecto significativo ( $p < 0.01$ ) sobre la calidad embrionaria al séptimo día post monta. De un total de 27 embriones recuperados, el 77.78% (n = 21) se encuentran entre excelente y buena calidad embrionaria al día 7 post monta. Los embriones recolectados de los cuernos uterinos considerados como excelentes y buenos de calidad embrionaria fueron de 100% en el grupo 1 (T1), 100% en el grupo 2 (T2) y 33.33% en el grupo 3 (T3).

La diferencia en la calidad embrionaria podría ser explicada porque un folículo en regresión posiblemente contribuye a modificar el ambiente folicular, afectando la calidad del ovocito, que si bien no afectan la capacidad de fecundación, si pueden afectar la capacidad del desarrollo embrionario temprano post fecundación, debido a la expresión de genes que contribuyen al desarrollo embrionario, según ha sido reportado por Córdova *et al.* (2014) en estudios *In Vitro* con ovocitos bovinos.

Un estudio realizado por Cervantes (2004) reportó que alpacas con presencia de folículos dominantes en estadio de regresión, presentaban una menor tasa de sobrevivencia embrionaria (42.86%) lo que sustenta lo registrado en el presente estudio.

Respecto a las tasas de recuperación embrionaria, se registró una tasa de recuperación del 64.3% para el T1, 47.4 % para el T2 y 50.0 % para el T3; sin embargo esta diferencia a favor del T1 puede ser explicada porque 2 animales fueron excluidos del estudio al no presentar ovulación.

La información obtenida es de gran importancia porque nos permite explicar que las posibles diferencias en la calidad embrionaria no están en relación directa con los estadios de desarrollo de la onda folicular, debido a que no se obtienen diferencias significativas y que estas podrían ser explicadas por otros factores aun no esclarecidos.

## **VI. CONCLUSIONES**

- La respuesta ovárica comprendida por la tasa de ovulación, tamaño de cuerpo lúteo no se ve afectada por el efecto del estadio de desarrollo de la onda folicular.
- Existe efecto del estadio de desarrollo de la onda folicular, en la fase regresión, sobre la calidad embrionaria en comparación con los estadios de crecimiento y estática.

## VII. LITERATURA CITADA

1. Aba M., Forsberg M., Kindahl H., Sumar J., Edqvist L. 1995. Endocrine changes after mating in pregnant and non-pregnant llamas and alpacas. *Acta Vet. Scand.* 36:489-498.
2. Aba M., Sumar J., Kindahl H., Forsberg M., Edqvist L. 1998. Plasma concentrations of 15-ketodihydro-PGF (2-alpha), progesterone, estrone sulfate, estradiol-17-beta and cortisol during late-gestation, parturition and the early postpartum period in llamas and alpacas. *Animal Reproduction Science.* 50:111-121.
3. Aba M., Kindahl H., Forsberg M., Quiroga M., Auza N. 2000. Level of progesterone and changes in prostaglandin F2 $\alpha$  release during luteolysis and early pregnancy in llamas and the effect of treatment with flunixin meglumine. *Anim. Reprod. Sci.* 59:87-97.
4. Adams, G.P., Sumar, J., Ginther O. 1990. Effects of lactational and reproductive status on ovarian follicular waves in llamas (*Lama glama*). *J. Reprod. Fertil.* 90:535-545.
5. Adams G., Sumar, J., Ginther OJ. 1991a. Hemorrhagic ovarian follicles in llamas. *Theriogenology.* 35:557-568.
6. Adams GP., Sumar J., Ginther OJ. 1991b. Form and function of the corpus luteum in llamas. *Anim. Reprod. Sci.* 24:127-138.
7. Adams GP., Matteri RL., Ginther OJ. 1992. Effect of progesterone on ovarian follicles, emergence of follicular waves and circulating follicle-stimulating hormone in heifers. *J. Reprod. Fertil.* 96:627-664.
8. Adams GP. 1999. Comparative patterns of follicle development and selection in ruminants. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 54:17-32.
9. Adams GP., Ratto MH. 2001. Reproductive biotechnology in South American Camelids. *Rev. Inv. Vet. Perú. Suppl.* 1:134-141.
10. Adams G., Ratto M., Huanca W., Singh J. 2005. Ovulation-Inducing Factor in the Seminal Plasma of Alpacas and Llamas. *Biol Reprod.* 73:452-457.

11. Adams G. 2007. Application of the bovine model for the study of ovarian function in other species. En: XX Reunión ALPA, XXX Reunión APPA-Cusco-Perú: Asociación Latinoamericana de Producción Animal-Asociación Peruana de Producción Animal. Pp:7-19.
12. Aller, J.; Cancino, A.; Rebuffi, G.; Alberio, R. 1999. Inducción de la ovulación en llamas. En: II Congreso Mundial sobre Camélidos. Resumen. Cusco. p. 91.
13. Aller JF., Rebuffi GE., Cancino AK. 2002. Superovulation response to progesterone-eCG treatment in vicuna (*Vicugna vicugna*) in semicaptive conditions. *Theriogenology*. 57: 576 (Abstract).
14. Baldelli, R.; Dieguez, C.; Casanueva, F. 2002. The role of leptin in reproduction: experimental and clinical aspects. *Ann Med*. 34(1):5-18.
15. Bazer, F.; Vallet, J.; Roberts, R.; Sharp, D.; Thatcher, W. 1986. Role of conceptus secretory products in establishment of pregnancy. *J Reprod. Fertil*. 76(2):841-850.
16. Bourke D., Adam C., Kyle C., Young P., Mc Evoy TG. 1992. Ovulation, superovulation and embryo recovery in llamas. In: *Proceedings 12th International Congress on Animal Reproduction*, vol. 1, The Hague, Netherlands. pp 193-195.
17. Bourke D., Adam C., Kyle C., Mc Evoy TG., Young P. 1994. Ovarian response to PMSG and FSH in llamas. *European Symposium on South American Camelids*. Pp 75-81.
18. Bourke D.; Kyle CE.; Mc Evoy TG.; Young P.; Adam CL. 1995. Superovulatory responses to eCG in llamas (*Lama glama*). *Theriogenology*. 44: 255-268.
19. Bravo W., Sumar J. 1989. Laparoscopic examination of the ovarian activity in alpacas. *Anim. Reprod. Sci*. 21:271-281.
20. Bravo W., Fowler ME., Stabenfeldt GH., Lasley B. 1990. Ovarian follicular dynamics in the llama. *Biology Reproduction*. 43:579-585.
21. Bravo W., Stabenfeldt G., Lasley B., Fowler M. 1991. The effect of ovarian follicular size on pituitary and ovarian responses to copulation in domesticated South American camelids. *Biol. Reprod*. 45:553-559.
22. Bravo W., Varela MH. 1993. Prenatal development of the alpaca (*Lama pacos*). *Anim. Reprod. Sci*. 32:245-252.
23. Bravo W. 1994. Reproductive endocrinology of llamas and alpacas. *Vet Clin North Am. Food Anim Pract*. 10:265-279.
24. Bravo W., Fowler ME., Lasley BL. 1994. The postpartum llama: fertility after parturitium. *Biol. Reprod*. 51:1084-1087.
25. Bravo W., Tsutsui T., Lasley BL. 1995a. Dose response to equine chorionic gonadotropin and subsequent ovulation in llamas. *Small Rumin. Res*. 18: 157-163.

26. Bravo W., Lasley B., Fowler M. 1995b. Resumption of ovarian follicular activity and uterine involution in the postpartum llama. *Theriogenology*. 44:783-791.
27. Bravo W, Moscoso J, Ordoñez C, Alarcon V. 1996. Transport of spermatozoa and ova in female alpaca. *Anim Reprod Sci*. 43:173-179.
28. Bravo W., Flores U., Garnica J., Ordoñez C. 1997. Collection of semen and artificial insemination of alpacas. *Therionology* 47:619–626.
29. Bravo W, Skidmore JA, Zhao X. 2000. Reproductive aspects and storage of semen camelidae. *Anim Reprod Sci*. 62:173-193.
30. Brown B. 2000. A review on reproduction in South American camelids. *Anim. Reprod. Sci*. 58:169-195.
31. Burton M., Burton R., Marshall C Corp. 1969. The International Wildlife Encyclopedia. B.P.C. Publishing Limited, New York. 10:1329-1331.
32. Cárdenas, O.; Ratto, M.; Cordero, A.; Huanca, W. 2001. Determinación de la fertilidad en llamas con un servicio, mediante conducta sexual y ecografía. *Rev. Inv. Vet. Perú*. Supl 1:467-469.
33. Cervantes F. 2004. Estudio del efecto del estadio del desarrollo folicular al momento de la monta sobre la ovulación y sobrevivencia embrionaria en alpacas. Tesis de Médico Veterinario. Lima: Univ. Nac. Mayor de San Marcos. 53p.
34. [CITE-Alpaca]. Centro de Investigación Tecnológica. 2006. Diagnóstico del Sector Alpaquero en el Perú. Programa de Innovación Tecnológica MTINCI – AECL. Lima-Perú.
35. Conaway CH. 1971. Ecological adaptation and mammalian reproduction. *Biol Reprod* 4(3):239-247.
36. Córdova A., Perreau C., Uzbekova S., Ponsart C., Locatelli Y., Mermillod P. 2014. Development rate and gene expression of IVP bovine embryos cocultured with bovine oviduct epithelial cells at early or late stage of preimplantation development. *Theriogenology*. 81:1163-73.
37. Correa J., Ratto M., Gatica R. 1994. Actividad estral y respuesta ovárica en alpacas y llamas tratadas con progesterona y gonadotrofinas. *Arch. Med. Vet*. 26: 59-64.
38. Correa J., Ratto M., Gatica R. 1997. Superovulation in llamas with pFSH and equine chorionic gonadotrophin used individually or in combination. *Anim. Reprod. Sci*. 46: 289-296.
39. Cháves MG., Aba MA., Agüero A., Egey J., Berestin V., Rutter B. 2002. Ovarian follicular wave pattern and the effect of exogenous progesterone on follicular activity in non-mated llamas. *Animal Reproduction Science*. 69: 37-46.

40. Del Campo MR., Del Campo CH., Adams GP. 1995. The application of new reproductive technologies to South American camelids. *Theriogenology*. 43: 21 – 30.
41. Del Campo MR., Del Campo CH., Donoso MX., Ginther OJ., 1996. Recuperación y morfología de ovocitos de llamas (*Lama glama*). I Congreso Mundial sobre camélidos. Cajamarca-Perú. pp: 7.
42. Del Campo MR., Toro F., Von Baer A., Montecinos S., Donoso X., Von Baer L. 2002. Morphology and physiology of llama (*Lama glama*) and alpaca (*Lama paco*) embryos. *Theriogenology*. 57, 581.
43. England BG., Foote WC., Cardozo AG., Matthews DH., Riera S. 1971. Oestrus and mating behavior in the llama (*Lama glama*). *Anim. Behav.* 19: 722-726.
44. [FAO]. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. 2005. Proyecto de Cooperación Técnica en apoyo a la crianza y aprovechamiento de los Camélidos Sudamericanos en la Región Andina TCP/RLA/2914: Situación actual de los camélidos sudamericanos en Perú. 62p.
45. Fernández-Baca S., Maden DH., Novoa C. 1970a. Effect of different mating stimuli on induction of ovulation in the alpaca. *J. Reprod. Fert.* 22:261-267.
46. Fernández-Baca S., Hansel W., Novoa C. 1970b. Embryonic mortality in the alpaca. *Biol. Reprod.* 3:243–251.
47. Fernández-Baca S., Hansel W., Novoa C. 1970c. Corpus luteum functions in the alpaca. *Biol. Reprod.* 3:252-261.
48. Fernández-Baca, S. 1971. La Alpaca. Reproducción y crianza. Boletín N° 7. IVITA. UNMSM. Lima. 43 pp.
49. Fernández-Baca S., Novoa C., Sumar J. 1972a. Actividad reproductiva en la alpaca mantenida en separación del macho. *Mem. ALPA.* 7:7-18.
50. Fernández-Baca S., Sumar J, Novoa C. 1972b. Comportamiento sexual de la alpaca macho frente a la renovación de las hembras. *Rev Inv Pec IVITA Univ San Marcos.* 1:115-128.
51. Fernández-Baca S, Sumar J, Novoa C. 1973. Relación entre la ubicación del cuerpo lúteo y la localización del embrión en la alpaca. *Revista Inv. Pecuarias. (IVITA) UNMSM. Lima-Perú.* 2:131-135.
52. Fernández-Baca S., Novoa C., Sumar J. 1974. Pubertad en alpacas. *Avances de Investigación. Bol. de Div. N° 15 IVITA UNMSM. Lima-Perú.* pp: 129-138.
53. Fernández-Baca S. 1991. Avances y perspectivas del conocimiento de los camélidos sudamericanos. FAO. ONU. Chile. p 1-3.
54. Fernández-Baca S. 1993. Manipulation of reproductive functions in male and female new world camelids. *Anim Reprod Sci.* 33:307-323.

55. Fowler ME. 1989. Medicine and surgery of South American Camelids. Llama, Alpaca, Vicuña, Guanaco. Iowa State University Press, Ames.
56. Fowler M., Olander H. 1990. Fetal membranes and ancillary structures of llamas (Lama glama). Am. J. Vet. Res. 51:1495-1500.
57. Gonzáles-Mencio F., Manns J., Murphy BD. 1978. FSH and LH activity of PMSG from mares at different stages of gestation. Anim. Reprod. Sci. 1: 137-144.
58. Gore-Langton, R.; Armstrong, D. 1994. Follicular steroidogenesis and its control. In: The Physiology of reproduction. 2nd ed. Edit. Knobil and J. Nelly. Raven Press. New York. Chapter 11. p. 571-628.
59. Greenwald, G.; Roy, S. 1994. Follicular development and its control. In: The Physiology of reproduction. 2nd edition. Edit. Knobil and J. Nelly. Raven Press. New York. Chapter 11. p. 650
60. Grimek HJ., Gorski J., Wentworth BC. 1979. Purification and characterization of bovine Follicle-Stimulating hormone: comparison with ovine follicle-stimulating hormone. Endocrinology. 104: 140-147.
61. Hafez, E. 1996. Reproducción e Inseminación Artificial en Animales. 6ta ed. Editorial Interamericana McGraw-Hill. México. 525 pp.
62. Hafez, B. 2000. Reproducción e Inseminación Artificial en animales. 7ma ed. México. McGraw– Hill. 519 p.
63. Hafez ESE., Hafez B. 2002. Hormonas, factores de crecimiento y reproducción. Reproducción e inseminación artificial en animales. 7ma. Edición. Editorial McGraw-Hill Interamericana Editores S.A. de C.V. México. 519: 33-69.
64. Huanca, F. 2014. Efecto de la aplicación del plasma seminal sobre la tasa, tiempo a la ovulación y desarrollo del cuerpo lúteo en alpacas (Vicugna pacos). Universidad científica del Sur.
65. Huanca, T. 2008. Efecto de la administración de gonadotropinas exógenas (FSH y eCG) en la respuesta ovárica y en la producción de embriones en alpacas (Vicugna pacos), PhD Thesis. Universidad de Santiago de Compostela, Lugo, España, pp: 78.
66. Huanca, W. 1997. Nutrición y Reproducción. En: I Symposium Internacional: Avances en reproducción de rumiantes. Memorias. Lima. p. 74.
67. Huanca W, Cárdenas O, Olazábal C, Ratto M, Adams GP. 2001. Efecto hormonal y empadre sobre el intervalo a la ovulación en llamas. Rev Inv Vet Perú. 1: 462-463.
68. Huanca W., Ratto M., Santiani A., Cordero A., Huanca T. 2004. Embryo transfer in camelids: Study of a reliable superovulatory treatment in llamas. 4th European Symposium on South American Camelids and DECAMA European Seminar,

- Gottingen, 7 – 9 October, 2004, Germany. Abstracts. Ed. M. Gerken, C. Renieri, M. Gauly and A. Riek.
69. Huanca W, Gonzalez M, Cordero A, Huanca T. 2006a. Comportamiento reproductivo de donadoras de embriones, después de un protocolo de superovulación en llamas. Resumen V Congreso Mundial de Camélidos, Catamarca – Argentina.
  70. Huanca W., Ratto M., Cordero A., Santiani A., Huanca T., Cárdenas O., Adams GP. 2006b. Respuesta ovárica y transferencia de embriones en alpacas y llamas en la zona altoandina del Perú. Resumen V Congreso Mundial de Camélidos, Catamarca– Argentina.
  71. Huanca, W., Cordero, A., Huanca, T., Cardenas, O., Adams, G.P., Ratto, M.H., 2009. Ovarian response and embryo production in llamas treated with equine chorionic gonadotropin alone or with a progestin-releasing vaginal sponge at the time of follicular wave emergence. *Theriogenology* 72:803–808.
  72. [IPAC] Instituto Peruano de alpacas y Camélidos. 2005. Documento de trabajo inter-institucional del Sector Alpaquero. Arequipa. Perú.
  73. Kinder, J.; Day, M.; Kittok, R.1987. Endocrine regulation of puberty in cows and ewes. *J Reprod Fertil Suppl.* 34:167-86.
  74. Knight, T.; Ridland, M.; Scott, I.; Death, A.; Wyeth, T. 1995. Foetal mortality at different stages of gestation in alpacas (*Lama pacos*) and the associated changes in progesterone concentrations. *Anim Reprod Sci.* 40:89-97.
  75. Lamming, G.; Wathes, D.; Flint, A.; Payne, J.; Stevenson, K.; Vallet, J. 1995. Local action of trophoblast interferon in suppression of the development of oxytocin and oestradiol receptors in ovine endometrium. *J Reprod Fertil.* 105(1):165-175.
  76. Lariviere S., Ferguson SH. 2003. Evolution of induced ovulation in North American carnivores. *Journal of mammalogy.* 84:937-947.
  77. León J., Smith B., Timm K., Le Crenn G. 1990. Endocrine changes during pregnancy, parturition and the early post-partum period in the llama (*Lama glama*). *J. Reprod. Fétil.* 88:503-511.
  78. Leyva V., Sumar J. 1981. Evaluación del peso corporal al empadre sobre la capacidad reproductiva de hembras alpaca de un año de edad. En: IV Conv Internacional Camélidos Sudamericanos. Punta Arenas, Chile.
  79. Leyva V.; García W. 1999a. Efecto de la progesterona exógena sobre la función del cuerpo lúteo de alpacas. En: II Congreso Mundial sobre Camélidos. Resumen. Cusco. p. 87
  80. Leyva V.; García, W. 1999b. Efecto de la Prostaglandina sobre la vida del cuerpo lúteo en alpacas. En: II Congreso Mundial sobre Camélidos. Resumen. Cusco. p. 88.



81. Leyva, V.; García, W. 1999c. Efecto de la progesterona exógena y endógena en alpacas en celo sobre la ovulación, fertilización y gestación. En: II Congreso Mundial sobre Camélidos. Resumen. Cusco. p. 89.
82. Leyva, V.; García, W. 1999d. Efecto de la GnRH sobre la fertilización y sobrevivencia embrionaria en alpacas. En: II Congreso Mundial sobre Camélidos. Resumen. Cusco. p. 90.
83. Leyva, V.; García, W. 2000. Efecto del estradiol (E2) en la fertilización y sobrevivencia embrionaria en alpacas. En: XV Congreso Nacional de Ciencias Veterinarias. Resumen. Cusco. 22-23.
84. Mantzoros, C. 2000. Role of leptin in reproduction. *Ann N Y Acad Sci.* 900:174-183.
85. Marín JC, Zapata B, González BA, Bonacic C, Wheeler JC, Casey C. 2007. Systematics, taxonomy and domestication of alpacas and llamas: new chromosomal and molecular evidence. *Rev Chil Hist Nat.* 80:121-140.
86. [MINAGRI] Ministerio de Agricultura y Riego. 2013. Resultados Definitivos IV Censo Nacional Agropecuario 2012. Lima. Peru. p 62.
87. Miragaya MH., Aba MA., Capdevielle EF., Ferrer MS., Chaves MG., Rutter B., Agüero A. 2004. Follicular activity and hormonal secretory profile in vicuna (*Vicugna vicugna*). *Theriogenology.* 61:663-671.
88. Monniaux D., Chupin D., Saumande J. 1983. Superovulatory responses of cattle. *Theriogenology.* 19: 55-81.
89. Moor RM, Kruip AM y Green D. 1984. Intra ovarian control of folliculogenesis: limits to superovulation. *Theriogenology.* 22: 103-116.
90. Niswender GD, Juengel JL, Silva PJ, Rollyson MK, McIntush EW. 2000. Mechanisms Controlling the Function and Life Span of the Corpus Luteum. *Physiol Rev.* 80:1-29.
91. Noakes DE, Parkinson TK, England GC. 2009. *Veterinary Reproduction and Obstetrics.* 9° ed. Sydney. Elsevier. 950 p.
92. Novoa C. 1970. Reproduction in Camelidae. *J Reprod Fert.* 22:3-20.
93. Novoa C., Sumar J. 1968. Colección de huevos in vivo y ensayo de transferencia en alpacas. Boletín extraordinario IVITA – UNMSM. Lima-Perú. 3, 31 – 34.
94. Novoa, C. 1989. Reproducción. In: Simposio de producción de alpacas y llamas. XII Reunión Científica Anual. APPA. Perú. p. 67-72.
95. Novoa, C. 1991. Fisiología de la Reproducción de la hembra. In: Avances y perspectivas del conocimiento de los camélidos sudamericanos. Cap III. Edi. Fernández Baca, S. Santiago. p. 93-103.
96. Novoa C., Leyva V. 1996. Reproduction en alpacas y llamas. Publicación científica. IVITA 26 (30):3–18.

97. Novoa C, Franco E, García W y Pezo D. 1999. Dosis de Gonadotropinas (eCG y hCG), superovulación y obtención de embriones en alpacas. *Rev. Inv. Vet.* 10 (1):48-53.
98. Oliveira L., Zago D., Leiser R., Jones C., Bevilacqua E. 2003. Placentation in the alpaca (*Lama pacos*) *Anat. Embryol.* 207:45–62.
99. Picton H., Briggs D., Gosden R. 1998. The molecular basis of oocyte growth and development. *Molecular and Cellular Endocrinology* 145:27–37.
100. Powell S., Smith B., Timmb K., Menino A. 2007. Estradiol production by pre implantation blastocysts and increased serum progesterone following estradiol treatment in llamas. *Animal Reproduction Science* 102:66–75.
101. Ratto M., Gatica R., Correa J. 1997. Timing of mating and ovarian response in llamas (*Lama glama*) treated with pFSH. *Animal Reproduction Science.* 48:325-330.
102. Ratto M., Singh J., Huanca W., Adams G.P. 2003. Ovarian follicular wave synchronization and pregnancy rate after fixed-time natural mating in llamas. *Theriogenology* 60, 1645-1656.
103. Ratto M., Berland M., Huanca W., Singh J., Adams GP. 2005. In Vitro and In Vivo maturation of llama oocytes. *Theriogenology.* 63: 2445 –2457.
104. Ratto M., Delbaere L., Leduc Y., Pierson R., Adams G. 2012. Biochemical isolation and purification of ovulation-inducing factor (OIF) in seminal plasma of llamas. *Reprod Biol Endocrinol* 9:24.
105. Ratto M., Silva M., Huanca W., Huanca T., Adams G. 2013. Induction of superovulation in south American Camelids. *Animal Reproduction Science.* 136:164-169.
106. Richards JS., Russell DL., Ochsner S., Espey LL. 2002. Ovulation: new dimensions and new regulators of the inflammatory-like response. *Annu Rev Physiol.* 64:69-92.
107. Rosales, A.; Avalos, A.; Vergara, M.; Hernández, O.; Ballesteros, L.; García, R.; Ortíz, V.; Rosado, A. 2000. Multiparametric study of atresia in ewe antral follicles: Histology, flow cytometry, internucleosomal DNA fragmentation, and lysosomal enzyme activities in granulosa cells and follicular fluid. *Mol Reprod Dev.* 55(3):270-281.
108. San Martin M., Copaira M., Zuniga J., Rodreguez R., Bustinza G., Acosta L. 1968. Aspects of reproduction in the alpaca. *J. Reprod. Fertil.* 16(3):395-399.
109. Sato A., Montoya L. 1990. Aparato reproductor de la alpaca (*Lama pacos*), Anatomía macroscópica. *Rev. Camélidos Sudamericanos.* 7: 13.
110. Schams D., Menzer C., Schallenberger E., Hoffman B., Hahn J., Hahn R. 1978. Some studies of the pregnant mare serum gonadotrophin (PMSG) and on endocrine reponses after application for superovulation in cattle. En: *Control of reproduction in the cow.* Ed: J.M. Sreenan. Martin Nijhoff, The Hague. pp: 122-142.

111. Schillo, K. 1992. Effects of dietary energy on control of luteinizing hormone secretion in cattle and sheep. *J Anim Sci.* 70:1271.
112. Schillo, K.; Hall, J.; Hileman, S. 1992. Effects of nutrition and season on the onset of puberty in the beef heifer. *J Anim Sci.* 70(12):3994-4005.
113. Singh J., Pierson RA., Adams GP. 1997. Ultrasound image attributes of the bovine corpus luteum: structural and functional correlates. *J Reprod Fertil* 109(1):35-44.
114. Skidmore, J.; Allen, W.; Heap, R. 1994. Oestrogen sintesis by the peri-implantation conceptus of the one-humped camel (*Camelus dromedarius*). *J Reprod Fertil.* 101:362-267.
115. Skidmore, J.; Allen, W.; Heap, R. 1997. Maternal recognition of pregnancy in the dromedary camel. *J. Camel Practice and Research.* 4(2):187-192.
116. Smith TM. 1985. Reproduction in South American Camelids. *Iowa State Univ. Vet.* 47:110-115.
117. Smith BB.; Timm KI.; Reed PJ.; Christensen M. 2000. Use of cloprostenol as an abortifacient in the llama (*Lama glama*). *Theriogenology.* 41:573-592.
118. Smith, G.; Jackson, L.; Foster, D. 2002. Leptin regulation of reproductive function and fertility. *Theriogenology.* 57(1):73-86.
119. Stevenson, J. 1997. Clinical reproductive physiology of the cow. In: *Current Therapy in large animal.* *Theriogenology.* Edit by Younquist, R. Vol I. Saunders Company Phyladelphia. p. 257-267.
120. Stevenson, J. 2007. Clinical reproductive physiology of the cow. In: *Current Therapy in large Animal Theriogenology.* 2° ed. USA. Elsevier. pp 258-270.
121. Stringfellow D, Givens D. 2011. *Manual de la Sociedad Internacional de Transferencia de Embriones.* 4ª ed. Illinois, EEUU: International Embryo Transfer Society. 185 p.
122. Sumar, J., Franco E. 1974. *Ensayos de Transferencia de Embriones en Camélidos Sudamericanos.* IN: *Informe Final (IVITA) UNMSM.* Lima, Perú.
123. Sumar, J. 1985. Reproductive physiology in South American camelids. En: *Genetics of Reproduction in Sheep.* Edit by Land, R; Robinson, S. London: Butterwotths. p 81–95.
124. Sumar, J., García M., 1986. Fisiología de la reproducción de la alpaca. In: *Nuclear and Related Techniques in Animal Production and Health,* IAEA, Viena. pp: 149-177.
125. Sumar, J. 1988. Removal of the ovaries or ablation of the corpus luteum and its effect on the maintenance of gestation in the alpaca and llama. *Acta Vet. Scand. Suplemento* 83:133.
126. Sumar, J., Bravo PW. 1991. In situ observation of the ovarian of llamas and alpacas by use of a laparoscopic technique. *J. Anim. Vet. Med. Assoc.* 199, 1159-1163.

127. Sumar, J., Bravo PW., Foote WC. 1993. Sexual receptivity and time of ovulation in alpacas. *Small Ruminant Research*. 11:143-150.
128. Sumar, J. 1994. Effects of various ovulation induction stimuli in alpacas and llamas. *J. Arid Environ*. 26:39-45.
129. Sumar, J. 1996. Reproduction in llamas and alpacas. *Animal Reproduction Science* 42:405-415.
130. Sumar, J. 1997 Avances y Perspectivas en Reproducción de Camélidos. En: *Memorias del I Symposium Internacional Avances en Reproducción de Ruminantes*. Lima. p.30-44
131. Sumar, J. 2000. Llamas and Alpacas. In: *Reproduction in farm animals*. Edit by Hafez, ESE. 7th edition. USA p. 218-228.
132. Sumar, J. 2007. Realidades y mitos sobre los Camélidos Sudamericanos. En: *XX Reunión ALPA, XXX Reunión APPA-Cusco-Perú: Asociación Latinoamericana de Producción Animal - Asociación Peruana de Producción Animal*. pp: 211 – 214.
133. Taylor S., Taylor PJ., James AN., Denniston RS., Godke R. 2001. Alpaca offspring born after cross species embryo transfer to llama recipients. *Theriogenology* 53, 1-344.
134. Tanco M. Ratto M. Lazzarotto M., Adams G. 2011. Dose-Response of Female Llamas to Ovulation-Inducing Factor from Seminal Plasma. *Biol Reprod* 85:452–456.
135. Tibary A. y Memon MA. 1999. Reproductive physiology in the female South American camelidae. 6, 217-233.
136. Tibary A. 2001. Fertilization, embryo and fetal development in camelids. In: *Proceedings of the Annual Conference of the Society for Theriogenology*, Vancouver, BC, Canada, 12-15 September. pp: 387-396.
137. Van den Hurk R., Zhao J. 2005. Formation of mammalian oocytes and their growth, differentiation and maturation within ovarian follicles. *Theriogenology*. 63:1717-1751.
138. Vaughan, JL.; D'Occhio, M.; Macmillan, K. 2000. Ovarian follicular inter-wave intervals in Alpacas. In: *14th International Congress on Animal Reproduction*. Abstract. Stockholm. 1:59.
139. Vaughan JL. 2001a. Control of follicular waves in alpacas. *Rev. Inv. Vet. Perú. Suplem. Lima-Perú*. 1, 112–114.
140. Vaughan JL. 2001b. Control of ovarian follicular growth in the alpaca (*Lama pacos*). Tesis de Doctorado. Central Queensland University.
141. Vaughan JL., Macmillan KL., Anderson GA., D'Occhio MJ. 2003. Effects of mating behavior and the ovarian follicular state of female alpacas on conception. *Aust. Vet. J.* 81: 86-90.
142. Vaughan, JL.; K. Macmillan; M. D'Occhio. 2004. Ovarian follicular wave characteristics in alpacas. *Anim. Reprod. Sci.* 80: 353–361.

143. Vaughan JL., Tibary A. 2006. Reproduction in female South American Camelids: a review and clinical observations. *Small Rumin Res.* 61: 259-281.
144. Vaughan JL. 2012. Practical aspects of Embryo Transfer and Artificial Insemination in South American Camelids. *Memorias VI Congreso Mundial de Camélidos.* pp 71 -84.
145. Velásquez F., Málaga J., Bravo W. 1999. Citología ex foliativa del útero de la alpaca. En: *II Congreso Mundial sobre Camélidos.* Cusco, Perú.
146. Velásquez C., Novoa MC. 1999. Superovulación con PMSG aplicada en fase folicular y fase luteal en alpacas. *Rev. Invest. Vet. Perú.* 1, 10.
147. Vivanco, W.; Cárdenas, H.; Bindon, B. 1985. Relación entre la duración de la cópula y momento de ovulación en alpacas. En: *Resum XII Reunión Cient Anu Asoc Peruana Prod. Anim. Perú.* Lima. p.19.
148. Webb, R.; Royal, M.; Gong, J.; Garnsworthy, P. 1999. The influence of nutrition on fertility. *Cattle Practice.* 7:227-234.
149. Wilson Wiepaz D., Chapman RJ. 1985. Non- surgical embryo transfer and live birth in a llama. *Theriogenology* 24: 251-257.
150. Zeuner, A.; Müller, K.; Reguszynski, K.; Jewge now, K. 2002. Apoptosis within bovine follicular cells and its effects on oocyte development during in vitro maturation. *Theriogenology.* 8737:1-13.

## VIII APÉNDICE

### APÉNDICE 1.- Grupo de animales del estadio en crecimiento de la onda folicular.

Estadio de la onda folicular	Número	Número de Arete	Collar	Raza	Color
CRECIMIENTO	1	371204	GnRH 9	HY	CA
	2	298206	PS 7	HY	NE
	3	420305	PS 13	HY	CR
	4	298206	PS 7	HY	NE
	5	420305	PS 13	HY	CR
	6	353206	PS 104	HY	CC
	7	125106	PS 2	HY	CA
	8	231206	PS 1	HY	CA
	9	30105	GnRH 2	HY	BL
	10	371204	GnRH 9	HY	CA
	11	2306	GnRH 108	HY	BL
	12	5406	PS 5	HY	BL
	13	315209	GnRH 102	HY	NE
	14	283205	GnRH 3	HY	NE
	15	234205	GnRH 12	HY	CR
	16	107106	PS 107	HY	NE

**APÉNDICE 2.- Grupo de animales del estadio en estática de la onda folicular.**

Estadío de la onda folicular	Número	Número de Arete	Collar	Raza	Color
ESTÁTICA	1	180104	PS 105	HY	CA
	2	328205	GnRH 101	HY	NE
	3	161105	GnRH 11	HY	BL
	4	354205	GnRH 13	HY	BL
	5	218205	GnRH 8	HY	CA
	6	3206	PS 12	HY	BL
	7	234205	GnRH 12	HY	CR
	8	159106	PS 10	HY	NE
	9	104105	GnRH 7	HY	CA
	10	368204	PS 3	HY	CA
	11	401304	PS 9	HY	CA
	12	4606	GnRH 10	HY	BL
	13	258204	PS 4	HY	NE
	14	4606	GnRH 10	HY	BL
	15	5306	GnRH 1	HY	BL
	16	9206	PS 103	HY	BL
	17	125106	PS 2	HY	CA
	18	231206	PS 1	HY	CA
	19	277204	PS 11	HY	CC

**APÉNDICE 3.- Grupo de animales del estadio en regresión de la onda folicular.**

Estadio de la onda folicular	Número	Número de Arete	Collar	Raza	Color
<b>REGRESIÓN</b>	<b>1</b>	283205	GnRH 3	HY	NE
	<b>2</b>	30105	GnRH 2	HY	BL
	<b>3</b>	182106	PS106	HY	BL
	<b>4</b>	211204	GnRH 6	HY	NE
	<b>5</b>	161105	GnRH 11	HY	BL
	<b>6</b>	104105	GnRH 7	HY	CA
	<b>7</b>	5306	GnRH 1	HY	BL
	<b>8</b>	218205	GnRH 8	HY	CA
	<b>9</b>	277204	PS 11	HY	CC
	<b>10</b>	302205	GnRH 4	HY	CA
	<b>11</b>	401304	PS 9	HY	CA
	<b>12</b>	302205	GnRH 4	HY	CA
	<b>13</b>	258204	PS 4	HY	NE
	<b>14</b>	5406	PS 5	HY	BL
	<b>15</b>	049104	GnRH 5	HY	CA
	<b>16</b>	159106	PS 10	HY	NE
	<b>17</b>	211204	GnRH 6	HY	NE
	<b>18</b>	354205	GnRH 13	HY	BL



**APÉNDICE 4.- Lista de tamaños de folículo ovulatorio y tamaño de cuerpo lúteo según el grupo de animales del estadio de la onda folicular.**

Estadio de la onda folicular	N°	Animal	Collar	Raza	Color	Tamaño de folículo ovulatorio		Tamaño del cuerpo lúteo	
						Izquierdo	Derecho	Izquierdo	Derecho
<b>CRECIMIENTO</b>	1	371204	GnRH 9	HY	CA		8 mm		9 mm
	2	298206	PS 7	HY	NE		8 mm		10 mm
	3	420305	PS 13	HY	CR	8 mm		12 mm	
	4	298206	PS 7	HY	NE	7.5 mm	8 mm	10mm	9 mm
	5	420305	PS 13	HY	CR	7.5 mm		7 mm	
	6	353206	PS 104	HY	CC	7.5 mm		7 mm	
	7	125106	PS 2	HY	CA		7.5 mm		11 mm
	8	231206	PS 1	HY	CA		8 mm		13 mm
	9	30105	GnRH 2	HY	BL	8.5 mm		11 mm	
	10	371204	GnRH 9	HY	CA		8 mm		10 mm
	11	2306	GnRH 108	HY	BL		7.5 mm		11 mm
	12	5406	PS 5	HY	BL		8 mm		9 mm
	13	315209	GnRH 102	HY	NE		7.5 mm		10 mm
	14	283205	GnRH 3	HY	NE	8 mm		10 mm	
	15	234205	GnRH 12	HY	CR	7.5 mm		No ovulo	
	16	107106	PS 107	HY	NE		7.5 mm	No ovulo	
<b>ESTÁTICA</b>	1	180104	PS 105	HY	CA	7 mm		10 mm	
	2	328205	GnRH 101	HY	NE	7 mm		11 mm	
	3	161105	GnRH 11	HY	BL		9 mm		10 mm
	4	354205	GnRH 13	HY	BL		9 mm		9 mm
	5	218205	GnRH 8	HY	CA	7.5 mm		9 mm	
	6	3206	PS 12	HY	BL	8.2 mm		10 mm	
	7	234205	GnRH 12	HY	CR		8 mm		10 mm
	8	159106	PS 10	HY	NE	7.4 mm		8 mm	
	9	104105	GnRH 7	HY	CA	7 mm		14 mm	
	10	368204	PS 3	HY	CA		7.7 mm		12 mm
	11	401304	PS 9	HY	CA		8 mm		9 mm
	12	4606	GnRH 10	HY	BL	7.4 mm		10 mm	8 mm
	13	258204	PS 4	HY	NE	7.2 mm		10 mm	
	14	4606	GnRH 10	HY	BL		7.4 mm		9 mm
	15	5306	GnRH 1	HY	BL		8mm		9mm
	16	9206	PS 103	HY	BL	7 mm		10 mm	
	17	125106	PS 2	HY	CA		7.4 mm		11 mm
	18	231206	PS 1	HY	CA	7.7 mm		10 mm	
	19	277204	PS 11	HY	CC	10 mm		10 mm	
<b>REGRESIÓN</b>	1	283205	GnRH 3	HY	NE	7mm		8 mm	
	2	30105	GnRH 2	HY	BL	7.5 mm		10 mm	
	3	182106	PS106	HY	BL	7.5 mm		13.6 mm	
	4	211204	GnRH 6	HY	NE	7 mm		9 mm	
	5	161105	GnRH 11	HY	BL	7 mm		12 mm	
	6	104105	GnRH 7	HY	CA	8 mm		10 mm	
	7	5306	GnRH 1	HY	BL		7.5 mm		14 mm
	8	218205	GnRH 8	HY	CA		7.2 mm		9 mm
	9	277204	PS 11	HY	CC		7 mm		12 mm
	10	302205	GnRH 4	HY	CA		7.5 mm		12 mm
	11	401304	PS 9	HY	CA		7 mm		10 mm
	12	302205	GnRH 4	HY	CA		7 mm		8 mm
	13	258204	PS 4	HY	NE		7 mm		9 mm
	14	5406	PS 5	HY	BL		7 mm		8 mm
	15	049104	GnRH 5	HY	CA		7 mm	8 mm	
	16	159106	PS 10	HY	NE	8 mm		8 mm	
	17	211204	GnRH 6	HY	NE		7.5 mm		9 mm
	18	354205	GnRH 13	HY	BL	8 mm		12 mm	

**PENDICE 5.- Lista de recuperación y calidad de embriones en los diferentes grupos de estadio en la onda folicular.**

Estadio de la onda Folicular	N°	Animal	Collar	Raza	Color	Embrión	Tamaño	Calidad
<b>CRECIMIENTO</b>	1	371204	GnRH 9	HY	CA	Si	650 um	Excelente
	2	298206	PS 7	HY	NE	Si	600 um	Excelente
	3	420305	PS 13	HY	CR	Si	580 um	Excelente
	4	298206	PS 7	HY	NE	Si	660 um	Excelente
	5	420305	PS 13	HY	CR	Si	300 um	Buena
	6	353206	PS 104	HY	CC	Si	460 um	Buena
	7	125106	PS 2	HY	CA	Si	560 um	Buena
	8	231206	PS 1	HY	CA	Si	600 um	Buena
	9	30105	GnRH 2	HY	BL	Si	550 um	Buena
	10	371204	GnRH 9	HY	CA	No		
	11	2306	GnRH 108	HY	BL	No		
	12	5406	PS 5	HY	BL	No		
	13	315209	GnRH 102	HY	NE	No		
	14	283205	GnRH 3	HY	NE	No		
<b>ESTÁTICA</b>	1	180104	PS 105	HY	CA	Si	600 um	Excelente
	2	328205	GnRH 101	HY	NE	Si	620 um	Excelente
	3	161105	GnRH 11	HY	BL	Si	420 um	Excelente
	4	354205	GnRH 13	HY	BL	Si	560 um	Excelente
	5	218205	GnRH 8	HY	CA	Si	340 um	Excelente
	6	3206	PS 12	HY	BL	Si	340 um	Excelente
	7	234205	GnRH 12	HY	CR	Si	320 um	Buena
	8	159106	PS 10	HY	NE	Si	350 um	Buena
	9	104105	GnRH 7	HY	CA	Si	500 um	Buena
	10	368204	PS 3	HY	CA	Si		
	11	401304	PS 9	HY	CA	No		
	12	4606	GnRH 10	HY	BL	No		
	13	258204	PS 4	HY	NE	No		
	14	4606	GnRH 10	HY	BL	No		
	15	5306	GnRH 1	HY	BL	No		
	16	9206	PS 103	HY	BL	No		
	17	125106	PS 2	HY	CA	No		
	18	231206	PS 1	HY	CA	No		
	19	277204	PS 11	HY	CC	No		
<b>REGRESIÓN</b>	1	283205	GnRH 3	HY	NE	Si	300 um	Buena
	2	30105	GnRH 2	HY	BL	Si	440 um	Buena
	3	182106	PS106	HY	BL	Si	840 um	Buena
	4	211204	GnRH 6	HY	NE	Si	240 um	Regular
	5	161105	GnRH 11	HY	BL	Si	230 um	Regular
	6	104105	GnRH 7	HY	CA	Si	500 um	Regular
	7	5306	GnRH 1	HY	BL	Si	260 um	Mala
	8	218205	GnRH 8	HY	CA	Si	350 um	Mala
	9	277204	PS 11	HY	CC	Si	320 um	Mala
	10	302205	GnRH 4	HY	CA	No		
	11	401304	PS 9	HY	CA	No		
	12	302205	GnRH 4	HY	CA	No		
	13	258204	PS 4	HY	NE	No		
	14	5406	PS 5	HY	BL	No		
	15	049104	GnRH 5	HY	CA	No		
	16	159106	PS 10	HY	NE	No		
	17	211204	GnRH 6	HY	NE	No		
	18	354205	GnRH 13	HY	BL	No		